

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID



Departamento de Biología Molecular

**Papel de la Respuesta a Choque Térmico en la
Resistencia a Quinolonas de
*Stenotrophomonas maltophilia***

Tesis Doctoral

Alejandra Bernardini

Centro Nacional de Biotecnología

Madrid, 2014

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID

Facultad de Ciencias

Departamento de Biología Molecular

**Papel de la Respuesta a Choque Térmico en la
Resistencia a Quinolonas de
*Stenotrophomonas maltophilia***

Memoria presentada para optar por el grado de Doctor por:

Alejandra Bernardini

VºBº

Los directores del trabajo:

Dr. José Luis Martínez Menéndez

Dra. María Blanca Sánchez



Obra Social
Fundación "la Caixa"

Madrid, 2014

A mi familia

Agradecimientos

Un largo viaje me ha llevado hasta acá que comenzó allá lejos en el aeropuerto de Buenos Aires, continuó en Madrid, en el CNB y desde hace 3 años en el laboratorio 212. En el tiempo muchas circunstancias me hicieron pensar que la tesis era un objetivo más difícil de lograr de lo que había pensado y que esa meta propuesta al ser una estudiante de biología se veía complicada de alcanzar. De no ser por personas grandiosas que me acompañaron desde siempre y por las que aparecieron por el camino, este librito no habría sido posible.

Debo en primer lugar el haber realizado la tesis a mi jefe de laboratorio Dr. *José Luis Martínez*, una persona excepcional y un ejemplo de jefe que me acogió en su laboratorio y fue de apoyo y ayuda siempre. Gracias por las enseñanzas y las oportunidades, por el interés, el optimismo y la confianza en el trabajo, por las charlas en los cafés de las mañanas y por generar un grupo y un ambiente de laboratorio excelente.

En segundo lugar quiero agradecer a la Dra. *María Blanca Sánchez*, por haberme explicado y ayudado en todo desde que llegué al laboratorio, por el apoyo, la predisposición, el interés y lo más importante por la motivación que me transmitiste siempre, muy necesaria en muchas épocas de la tesis. También te quiero agradecer por estar siempre “empujándome” que aunque no parecía muy contenta, fue de enorme ayuda, te lo agradezco un montón.

Quiero agradecer a la fundación *Obra Social La Caixa* por otorgarme la beca de doctorado con la que pude vivir en España, cursar el máster y realizar el doctorado en el CNB.

Quiero agradecer al Dr. *José Berenguer* y al Dr. *Felipe Cava* por ser mis tutores de la Universidad Autónoma de Madrid. Gracias por los consejos y por los aportes que contribuyeron a mi trabajo. A la Dra. *Inés Antón* por recibirme en su laboratorio, por permitirme trabajar ahí y por mis primeras enseñanzas en biología celular y molecular.

Quiero agradecer a mis compañeros de laboratorio, por ser de gran ayuda y compañía. Siempre predispuestos a darte una placa, prestarte un buffer, comentar un resultado... Grandes amistades nacieron de hablar de los experimentos o de la vida en general, en los cafés, en las reuniones, en las comidas y en alguna que otra cañita fuera del CNB. Muchos ya se han ido y recuerdo con mucho cariño: *Carolina*, *Jorge* y *Alicia*, que me ayudaron un montón siempre en cosas que yo era muy *naive*, fueron de gran ayuda en mis comienzos de tesis. Quiero agradecer a *Felipe* por las ayudas bioinformáticas y por su humor inteligente que siempre saca una sonrisa. A *Guille* por sus ayudas en la tesis y en *S. maltophilia* y por su gran afecto. A *Jose* por su cariño y por ser de gran ayuda en muchas cuestiones del laboratorio. A *Sara* por ser una persona excepcional llena de energía, que nos enseñó que se puede lograr que los pedidos lleguen de un día para el otro y por estar siempre predispuesta a dar una mano. A *Manu*, una persona buenísima y divertida, por poder contar con él, por la confianza, las charlas, la ayuda y los mejores chistes.

Dos personas muy especiales me han ayudado mucho en el laboratorio, tanto humana como profesionalmente. Una de ellas es *Tuenti*, mi compañero y amigo de laboratorio, con el que compartimos muchas cosas dentro y fuera del laboratorio, del que aprendí muchísimo y con el que me reí un montón. Una persona inteligentísima que ha

contribuido muchísimo con trabajo, análisis e ideas a esta tesis y que ha sido un gran amigo. Muchas gracias Tuenti.

La segunda persona es *Trini* que ha sido un angelito todo este tiempo para mí. Tengo que agradecer enormemente a ella por haberme escuchado, cuidado, aconsejado, abrazado y dado muchas fuerzas. Ha sido muy lindo tener una persona como ella en el laboratorio. Ni el regalo más grande alcanza para agradecerte. Muchas gracias Trini.

A los compis del lab 216, *Emma, Ruggero, Sofía, Luis, Renata, Fernando* y a *Patricia y Sole* que estuvieron de estancia, por sus consejos e ideas en los seminarios, por las charlas en la cafetería y por los lindos momentos que compartimos fuera del CNB.

Quiero agradecer otras personitas del CNB que me alegran mi día a día, a mis amigas *Caro, Mari y Fabia* que son unos solcitos de personas, por las lindas cosas que hemos compartido juntas y que ojalá compartamos muchas más, acá, en Brasil, Italia, Portugal o Argentina.

Quiero agradecer a muchas personas anónimas del CNB que contribuyen al día a día con su buena predisposición, ayuda, simpatía o simplemente con una sonrisa a que el día sea más lindo y que gracias a ellos estoy segura que los experimentos salen mejor.

A mis amigos que Madrid me regaló en estos años, que fueron como mi familia en España: *Amalia, Pablo, Daya y Meli*, por compartir viajes, salidas, ratitos en el CNB, un día en Ikea, una tarde donde sea y por estar siempre. A mis padres putativos en Madrid, *Antonio y Ana*, por ser personas excelentes e incondicionales. A *Nadia, Tania, Sonia, Ana y Anabella* por ayudarme y compartir momentos muy lindos en este camino.

A mi familia, *mamá, papá, Vale, Vero y la abu*, sin los cuales no estaría hoy acá, a quien dedico mi tesis y quienes son las personas más importantes de mi vida. A mis papis por haber sido los primeros maestros de mi vida, por darme todo, por transmitirme fuerza, por acompañarme a la distancia y por estar siempre. A mis hermanas porque me apoyaron siempre, por hacerme sonreír, por sentirme tan bien cuando estamos juntas, las amo! A mi bella abu, por sus buenos deseos siempre, por ser un ejemplo de dulzura y cariño.

A mi primo *Adri* y *Laura* por impulsarme a venir a España y por apoyarme, entenderme y ayudarme desde el hemisferio norte. A *Sabri*, mi amiga de toda la vida, por escucharme y entenderme casi mejor que nadie. A *Mer* por su contribución en el diseño de la tesis y por ser una amiga excelente e incondicional. A mis amigas de Argentina, *Majo, Coli, Euge, Vicky 1, Vicky 2, Pato, Barbi, Xime, Carla, Luz* porque cada vez que voy a Argentina pasamos momentos geniales y por hacer que parezca que el tiempo no haya pasado, las adoro! A *Pablo, mi tía, mis primos, el nono, mi ahijada* y a todas las personas que han contribuido mucho en este camino de distintas maneras, *muchísimas gracias*.

Índice

RESUMEN	19
ABREVIATURAS.....	25
1. Introducción.....	29
1.1. Resistencia a antibióticos	29
1.1.1. Métodos predictivos de estudio de la resistencia a antibióticos	34
1.1.2. Bacterias multirresistentes a antibióticos	36
1.1.3. Mecanismos de resistencia a antibióticos.....	37
1.2. <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	39
1.2.1. Mecanismos de resistencia a antibióticos en <i>S. maltophilia</i>	42
1.2.2. Resistencia a quinolonas en <i>S. maltophilia</i>	43
1.3. Mecanismos de estrés y resistencia a antibióticos	44
2. Objetivos	49
3. Materiales y Métodos	53
3.1. Cepas bacterianas y plásmidos.....	53
3.2. Soluciones de antibióticos y otros compuestos	54
3.3. Medios de cultivo y condiciones de cultivo.....	55
3.4. Determinación de la concentración mínima inhibitoria, sensibilidad a antibióticos y estrés oxidativo.....	56
3.5. Ensayos de motilidad	56
3.6. Escrutinio de genotecas y fenotipo de los mutantes	57
3.7. Soluciones para el análisis de ácidos nucleicos	57
3.8. Técnicas de ADN.....	58
3.8.1. Técnicas generales	58
3.8.2. Reacción de PCR.....	58
3.9. Técnicas de ARN	60
3.9.1. Extracción de ARN	60
3.9.2. Experimentos de análisis transcriptómico	61
3.9.3. RT-PCR en Tiempo Real	61
3.10. Técnicas de proteínas.....	62
3.10.1. Extracción de proteínas de membrana totales y de membrana externa..	62

3.10.2. Electroforesis de proteínas	64
3.11. Manipulaciones genéticas.....	64
3.11.1. Introducción de plásmidos	64
3.11.2. Complementación de los mutantes con los genes <i>rnG</i> , SMD_2116 (AAA-ATPasa) y SMD_0049 (Proteína asociada a pared)	65
3.12. Herramientas bioinformáticas	66
4. Resultados	71
4.1. Búsqueda de mutantes resistentes a antibióticos en <i>S. maltophilia</i>	71
4.1.1. Mapeo de mutantes resistentes a antibióticos en <i>S. maltophilia</i>	76
4.2. Complementación de mutantes en <i>S. maltophilia</i>	81
4.2.1. FSV46: Mutante en la RNasa G.....	83
4.2.2. G3.F1.5: Mutante en la AAA-ATPasa	84
4.2.3. G1.G8.35: Mutante en la Proteína asociada a pared	86
4.3. Estudio del mecanismo de resistencia relacionado con la RNasa G en <i>S. maltophilia</i>	88
4.3.1. Comparación de mutantes de la RNasa G de <i>S. maltophilia</i> y de <i>P. aeruginosa</i>	88
4.3.2. La RNasa G en el transcriptoma de <i>S. maltophilia</i>	91
4.3.3. Efecto de la inactivación de la RNasa G en la expresión génica de <i>S. maltophilia</i>	94
4.3.4. Inducción de resistencia a quinolonas por choque térmico.....	98
4.3.5. Efecto de la inactivación de la RNasa G en el <i>fitness</i> de <i>S. maltophilia</i> ..	102
4.3.6. Efecto de la sobreexpresión de la RNasa G en la sensibilidad a quinolonas de <i>S. maltophilia</i>	103
4.4. Estudio del mecanismo de resistencia relacionado con la AAA-ATPasa en <i>S. maltophilia</i>	105
4.4.1. La AAA-ATPasa en el transcriptoma de <i>S. maltophilia</i>	105
4.4.2. Efecto de la inactivación de la AAA-ATPasa en la expresión génica de <i>S. maltophilia</i>	106
4.4.3. La inactivación de la AAA-ATPasa altera la motilidad de <i>S. maltophilia</i> ..	108
4.4.4. La inactivación de la AAA-ATPasa no modifica la respuesta a estrés oxidativo de <i>S. maltophilia</i>	109

4.4.5. La inactivación de la AAA-ATPasa produce defectos en el crecimiento en <i>S. maltophilia</i>	109
4.4.6. El mecanismo de resistencia a fosfomicina del mutante G3.F1.5 no está relacionado con una deficiencia en la entrada del antibiótico a través de los transportadores descritos en <i>P. aeruginosa</i>	111
4.5. Comparación de transcriptomas de FSV46 y G3.F1.5	114
4.6. Tiempos de vida media de los ARNs de <i>S. maltophilia</i>	118
4.6.1. Efecto de la RNasa G en los tiempos de vida media de los ARNs de <i>S. maltophilia</i>	120
5. Discusión.....	127
5.1. La RNasa G como regulador de la resistencia antimicrobiana en <i>S. maltophilia</i>	129
5.2. La AAA-ATPasa y su papel en resistencia	135
5.3. El choque térmico en la resistencia a antibióticos	137
5.4. ¿La inactivación de la RNasa G y de la AAA-ATPasa forman parte del mismo mecanismo de resistencia?	140
6. Conclusiones	145
7. Bibliografía.....	149
8. ANEXO	165

Índice de Figuras

Figura 1. Los diferentes elementos de la resistencia a antibióticos.....	33
Figura 2. Dianas de los antibióticos y mecanismos de resistencia.	38
Figura 3. Versatilidad del género <i>Stenotrophomonas</i>	40
Figura 4 (<i>página siguiente</i>). Fenotipo de sensibilidad a 8 antibióticos diferentes de mutantes aislados de las genotecas de inserción de <i>S. maltophilia</i>	74
Figura 5. Halos de sensibilidad a quinolonas de la cepa silvestre D457 y la cepa mutante FSV46	79
Figura 6. Comprobación mediante PCR de la inserción del transposón MiniTn5 Tc en el gen de la RNasa G.....	80
Figura 7. Comprobación mediante PCR de la inserción del transposón MiniTn5 Tc en los genes de AAA-ATPasa y Proteína asociada a pared.	80
Figura 8 (<i>página anterior</i>). Ensayo de complementación del mutante FSV46.....	83
Figura 9 (<i>página siguiente</i>). Ensayo de complementación del mutante G3.F1.5.....	84

Figura 10. Ensayo de complementación del mutante G1.G8.35.....	87
Figura 11. Alineamiento de la secuencia de aminoácidos de los genes de la RNasa G de <i>S. maltophilia</i> D457 y de <i>P. aeruginosa</i> PA14.....	89
Figura 12. Comprobación mediante PCR de la inserción del transposón MAR2xT7 en el gen de la RNasa G en <i>P. aeruginosa</i>	91
Figura 13. Expresión relativa de la RNasa G a lo largo de la curva de crecimiento de <i>S. maltophilia</i> D457.....	92
Figura 14. Expresión de la RNasa G en comparación a todo el transcriptoma.	93
Figura 15. Expresión de la RNasa G en comparación a las demás RNasas expresadas. .	94
Figura 16. Análisis de expresión de genes del mutante FSV46 respecto a la expresión de los genes en la cepa silvestre D457.....	96
Figura 17. Análisis de expresión diferencial de genes en el mutante FSV46.....	97
Figura 18. Efecto del choque térmico en la sensibilidad de <i>S. maltophilia</i> a ácido nalidíxico.	99
Figura 19. Expresión relativa de <i>dnaK</i> , <i>dnaJ</i> , <i>groES</i> , <i>groEL</i> , <i>clpB</i> , <i>rnG</i> , <i>emrA</i> y <i>emrB</i> a los 10 min de incubación a 37 o 42°C con o sin ácido nalidíxico en la cepa silvestre de <i>S. maltophilia</i> D457.	101
Figura 20. Curva de crecimiento del mutante FSV46 y la cepa silvestre de <i>S. maltophilia</i> D457.....	102
Figura 21. Efecto de la sobreexpresión de la RNasa G en el crecimiento de <i>S. maltophilia</i>	104
Figura 22. Expresión de las AAA-ATPasas en <i>S. maltophilia</i>	106
Figura 23. Motilidad tipo <i>swimming</i> del mutante G3.F1.5.	108
Figura 24. Curva de crecimiento del mutante G3.F1.5 y la cepa silvestre de <i>S. maltophilia</i> D457.....	110
Figura 25 (<i>página anterior</i>). Curvas de crecimiento del mutante G3.F1.5 y la cepa silvestre de <i>S. maltophilia</i> D457 en medio mínimo con distintas fuentes de carbono.	113
Figura 26. Perfil de proteínas de membrana del mutante G3.F1.5 y de la cepa silvestre D457.	114
Figura 27. Análisis de expresión de genes en el mutante G3.F1.5.....	115
Figura 28 (<i>página anterior</i>). Análisis comparativo de los transcriptomas de los mutantes FSV46 y G3.F1.5.	117
Figura 29. Tiempos de vida media de <i>groEL</i> y <i>groES</i> en D457 y FSV46.	119
Figura 30. Tiempos de vida media de los ARN de <i>S. maltophilia</i> D457.....	120
Figura 31 (<i>página anterior</i>). Comparación de tiempos de vida media de la cepa silvestre D457 y la mutante FSV46 de <i>S. maltophilia</i>	123
Figura 32. Mecanismo de degradación del ARN en <i>E. coli</i>	132

Índice de Tablas

Tabla 1. CMI de <i>S. maltophilia</i> a algunos antibióticos según Alonso y Martínez (1997).	41
Tabla 2. Cepas de <i>S. maltophilia</i> , <i>E. coli</i> y <i>P. aeruginosa</i>	53
Tabla 3. Plásmidos empleados a lo largo de este trabajo.	54
Tabla 4. Cebadores empleados a lo largo de este trabajo	59
Tabla 5. Cebadores empleados para RT-PCR en tiempo real.	63
Tabla 6. Cepas de <i>S. maltophilia</i> transformadas con plásmidos	66
Tabla 7. CMI de diferentes antibióticos de la cepa D457.	71
Tabla 8. Concentraciones de antibióticos utilizadas para realizar el escrutinio de las genotecas.	72
Tabla 9. Número de mutantes que crecen a la concentración de antibiótico indicada y en 20 µg/µl de tetraciclina en cada genoteca.	72
Tabla 10. Mutantes aislados mediante distintos antibióticos de las 4 genotecas de <i>S.</i> <i>maltophilia</i> , su fenotipo y el gen que se encuentra interrumpido por el transposón.	78
Tabla 11. Sensibilidad a los antibióticos de FSV46.	78
Tabla 12. Efecto de la RNasa G en la sensibilidad a los antibióticos de <i>S. maltophilia</i> D457 y <i>P. aeruginosa</i> PA14.	90
Tabla 13. Estrés oxidativo en G3.F1.5.	109
Tabla 14. Escrutinio genotecas 1, 2, 3 y 4 de <i>S. maltophilia</i> D457.	165
Tabla 15. Transcriptoma FSV46.	170
Tabla 16. Transcriptoma G3.F1.5.	174
Tabla 17. Tiempos de vida media de ARNs en D457 y FSV46.	184

RESUMEN

Resumen

La introducción de antibióticos para terapia es uno de los episodios más exitosos en la historia del tratamiento de las enfermedades humanas. Este éxito se debe a la eficacia de los antibióticos para tratar enfermedades infecciosas y permitir prácticas hospitalarias. Fuertemente ligado a estas ventajas se encuentra el problema del desarrollo de la resistencia bacteriana a antibióticos. Las bacterias desarrollan diversas estrategias para resistir a estas drogas, algunas de éstas son la expulsión de las mismas por sistemas de bombeo o la inactivación mediante enzimas. Sin embargo, las bacterias poseen muchos mecanismos de resistencia que aún no se han caracterizado.

Stenotrophomonas maltophilia es un patógeno oportunista, asociado a infecciones nosocomiales, que presenta resistencia intrínseca y adquirida a varios antibióticos, incluyendo las quinolonas. *S. maltophilia* tiene un amplio rango de determinantes de resistencia responsable de su fenotipo de baja sensibilidad.

Con el objetivo de definir nuevos mecanismos de resistencia de *S. maltophilia* y de determinar las bases moleculares involucradas en los mismos, analizamos una genoteca de mutantes de inserción para buscar cepas resistentes a varios antibióticos.

El mutante FSV46, aislado en ácido nalidíxico, resistente a quinolonas y fosfomicina, y sensible a tobramicina y gentamicina, tiene interrumpido el gen *rnG* que codifica la RNasa G. Este mutante tenía sobreexpresados los genes que codifican proteínas involucradas en la respuesta a choque térmico. La inducción de un choque térmico en la cepa silvestre produjo los mismos niveles de resistencia a ácido nalidíxico que la cepa mutante y también tenía sobreexpresadas las proteínas de respuesta a choque térmico.

G3.F1.5, mutante resistente a quinolonas y fosfomicina, y sensible a tobramicina y gentamicina, tiene interrumpido el gen *SMD_2116* que codifica una AAA-ATPasa. Observamos que este mutante no parece tener modificado el sistema de entrada de fosfomicina en la membrana. De manera semejante como obtuvimos para el mutante en el gen de la RNasa G, el mutante G3.F1.5 también tenía sobreexpresados los genes que codifican proteínas involucradas en la respuesta a choque térmico.

En esta tesis diseñamos un ensayo que nos permitió calcular los tiempos de vida media de los ARN en *S. maltophilia*. Determinamos los tiempos de vida media de más de 4000 marcos de lectura abiertos. Los valores oscilaron entre 1,5 a 600 min, siendo los valores entre 2 y 4 min los tiempos de vida media más comunes. Muchos ARNs en FSV46 mostraron tiempos de vida media más de dos veces mayores que en la cepa silvestre. Estos ARNs son potenciales dianas de la RNasa G.

En este trabajo, encontramos genes nunca antes relacionados con resistencia – que codifican la RNasa G y una AAA-ATPasa– que están relacionados con un mecanismo de baja sensibilidad a quinolonas y fosfomicina. Ambos mecanismos están mediados por una inducción de proteínas relacionadas con la respuesta a choque térmico, indicando que la respuesta a choque térmico es relevante en la adquisición de resistencia a quinolonas en *S. maltophilia*.

Abstract

The introduction of antibiotics for therapy is among the most successful episodes in the history of the treatment of human diseases. This success is not only due to their efficacy for treating infectious diseases, but also to the need of anti-infective tools for the implementation of clinical practices. Tightly linked to this outcome, antibiotic resistance among bacteria has emerged. The antibiotic resistance mechanisms comprise an increase in the extrusion of the drugs by efflux pump systems or the activity of antibiotic inactivating enzymes, among others. Nevertheless, bacteria manage many effective antibiotic resistant strategies that are not well characterized.

Stenotrophomonas maltophilia is an opportunistic pathogen, associated with nosocomial infections, which presents intrinsic and acquired resistance to several antibiotics, including quinolones. *S. maltophilia* has a wide range of resistance determinants responsible of its characteristic low susceptibility phenotype.

In order to define new mechanisms of resistance in *S. maltophilia* and to determine the molecular bases involved, we screened an insertion gene library to find resistant mutants to several antibiotics.

FSV46, a mutant isolated in nalidixic acid, was resistant to quinolones and fosfomycin and hypersusceptible to tobramycin and gentamicin. The gene interrupted in this mutant was *rnG* that encodes RNase G. This mutant had upregulated genes encoding proteins involved in the heat shock response. Heat shock induction of the wild type strain rendered the same levels of resistance to acid nalidixic than the mutant strain and had overexpressed the heat shock proteins.

G3.F1.5 was a mutant resistant to quinolones and fosfomycin and hypersusceptible to tobramycin and gentamicin. The gene interrupted in this mutant was SMD_2116 that encodes an AAA-ATPase. This mutant did not seem to have impaired the apparatus of import of fosfomycin in the membrane. However and similarly as it happened with the mutant in the RNase G, the G3.F1.5 mutant also had increased expression of genes coding proteins involved in the heat shock response.

Using sequence-based transcriptomic analysis, we performed an assay to calculate the half-life of *S. maltophilia* RNAs. We determined the half-life times of more than 4000 open reading frames. The values oscilated among 1,5 to 600 min, being values between 2 and 4 the most common RNA half-life times. Many RNAs in FSV46 showed more than twice the half-life time in the wild type strain. These RNAs are potential targets of RNase G.

New genes never before related to antibiotic resistance –coding RNase G and AAA-ATPase- were found to be involved in the low susceptibility to quinolones and fosfomycin of *S. maltophilia*. Both mechanisms are mediated by an induction of heat shock related proteins. This indicates that heat shock response may be of relevance in the acquisition of quinolone resistance by *S. maltophilia*.

ABREVIATURAS

Abreviaturas

x g: Velocidad de centrifugación multiplicada por la fuerza de gravedad de la Tierra

ABC: de las siglas en inglés *ATP binding cassette*

ADN: Ácido desoxirribonucleico

ADNc: Ácido desoxirribonucleico complementario

ADNg: Ácido desoxirribonucleico genómico

ARN: Ácido ribonucleico

ATP: Adenosín trifosfato

C: Cloranfenicol

CLSI: de las siglas en inglés de *Clinical and Laboratory Standard Institute*

CMI: Concentración mínima inhibitoria

CN: Gentamicina

CT: Colistina

CYO: Oxidasa terminal

DMSO: Dimetilsulfóxido

DO: Densidad óptica

E: Eritromicina

EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético

IPTG: Isopropil- β -D-1-tiogalactopiranosido

kb: kilopares de bases

kDa: kiloDaltons

LEV: Levofloxacin

MDR: de las siglas en inglés *Multi Drug Resistance* (Resistencia múltiple de drogas)

Min: minutos

MOX: Latamoxef

NOR: Norfloxacin

ON: de las siglas en inglés de *Over Night* (toda la noche)

pb: pares de bases

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa

REP: de las siglas en inglés *Repeated extragenic palindrome* (Repeticiones palindrómicas extragénicas)

RT-PCR: Transcripción inversa y reacción en cadena de la polimerasa

SDS-PAGE: Electroforesis en geles de poliacrilamida con SDS

SXT: Cotrimoxazol (trimetoprim:sulfametoxazol 19:1)

TGC: Tigeciclina

Tn: Transposón

TOB: Tobramicina

INTRODUCCIÓN

1. Introducción

1.1. Resistencia a antibióticos

Los antibióticos son sustancias orgánicas naturales o sintéticas que inhiben el crecimiento bacteriano (Waksman, 1947). Estas sustancias fueron introducidas como agentes terapéuticos en el siglo XX para el tratamiento y profilaxis de infecciones bacterianas en humanos y animales (Soulsby, 2011) y se utilizaron extensivamente durante la Segunda Guerra Mundial para el tratamiento de enfermedades infecciosas. El aumento de la esperanza de vida humana durante el último siglo se atribuye, entre otras causas, a la efectividad de los antibióticos contra las enfermedades infecciosas que anteriormente eran devastadoras y particularmente, en posibilitar la aplicación de técnicas médicas y quirúrgicas a ancianos, pacientes débiles o inmunocomprometidos. Actividades que actualmente se consideran rutinarias en un hospital como cirugías complejas, inmunosupresión para trasplantes, intubación o terapias anti-cáncer serían impensables sin el uso de antibióticos para prevenir o tratar infecciones (Wilson y Salyers, 2002). Sin embargo, la masificación en el uso de antibióticos se ha acompañado de un empleo inadecuado a nivel clínico, ayudando a la aparición de resistencia en los microorganismos, constituyendo un problema de primera magnitud a nivel mundial (WHO, 2006). A su vez, el gran consumo de antibióticos en medicina y veterinaria y su uso en diferentes actividades humanas ha contribuido a que el medio ambiente sea contaminado con diversos antibióticos, creando una gran presión selectiva que favorece la aparición, diseminación y persistencia de patógenos resistentes a antibióticos (Marshall y *col.*, 2012).

Para entender exactamente cómo se desarrolla la resistencia a antibióticos tenemos que tener en cuenta dos componentes: el antibiótico o la droga antimicrobiana, que inhibe a los microorganismos sensibles y selecciona los resistentes; y el determinante de resistencia genético en los microorganismos seleccionado por la droga antimicrobiana (Levy, 1994). La resistencia se desarrolla sólo cuando se dan estos dos componentes en un ambiente o un huésped. Los genes de resistencia seleccionados y el microorganismo se suelen diseminar y propagar bajo selección antimicrobiana, extendiendo el problema a otros huéspedes y otras ubicaciones geográficas (Harris y Rogers, 2001; Hejnar y *col.*, 2007; Levy y Marshall, 2004). Como elemento que podría disminuir la expansión de la resistencia, se ha

pensado que el cese de la presión de selección antimicrobiana podría provocar que las bacterias resistentes desapareciesen por ser menos competitivas que las sensibles. Esta hipótesis se basa en el hecho de que frecuentemente las mutaciones que dan lugar a resistencia ocurren en genes codificantes de las dianas de los antibióticos o en los transportadores de los mismos que suelen ser proteínas esenciales para la fisiología bacteriana y en que la adquisición de un determinante de resistencia conlleva el coste metabólico requerido para la replicación, transcripción y traducción de dicho elemento (Yim y col., 2006). Esta pérdida de competitividad es lo que se ha denominado *fitness* (eficacia biológica) *cost*. De hecho, distintos trabajos, basados en el co-cultivo de bacterias resistentes y sensibles, indican que la adquisición de resistencia a los antibióticos va asociada en ocasiones a un coste en la eficacia biológica de los organismos resistentes (Andersson y Levin, 1999). Estas cepas resistentes pero menos eficientes serían eliminadas por sus contrapartes sensibles pero eficientes en un ambiente libre de antibióticos (Andersson, 2006).

Sin embargo, datos recientes indican que la adquisición de resistencia no siempre conlleva un *fitness cost*, reflejando el mínimo coste de supervivencia de ciertas cepas resistentes emergentes (Balsalobre y de la Campa, 2008; Sanchez y Martinez, 2012). Además, se ha visto que en ocasiones la adquisición de resistencia le puede beneficiar a la cepa más allá de la defensa contra el antimicrobiano específico, bien porque proporcione resistencia a otro antimicrobiano o bien porque vaya asociada a la presencia de un elemento que produzca una ventaja competitiva, de modo que mientras esta característica le proporcione una ventaja al microorganismo el mecanismo asegurará su permanencia en el correspondiente hábitat (Levy y Marshall, 2004). Por último, en ocasiones las bacterias solventan la pérdida de eficacia biológica con mutaciones que puedan compensar las deficiencias en el metabolismo del organismo (Andersson y Hughes, 2010). En su conjunto, estos resultados indican que, una vez seleccionada, no es sencillo que la resistencia a los antibióticos se pierda, incluso en ausencia de presión selectiva.

A pesar de que la resistencia se suele desarrollar ante la presión antimicrobiana, los genes de resistencia existían previamente al uso de antibióticos (Zhao y Dang, 2012). De hecho, se ha postulado que el origen de la resistencia a los antibióticos está en las bacterias productoras de los mismos, ya que microorganismos productores de

antibióticos presentan genes de resistencia contra los mismos para protegerse de sus efectos nocivos (Kuzuyama y col., 1996). En algunos casos, el origen de ciertos genes de resistencia a los antibióticos que las bacterias patógenas han adquirido tras la introducción de estas drogas para terapia, ha sido trazada. Este es el caso del gen *qnrA*, codificante de la proteína de resistencia a quinolonas Qnr. Este gen se encuentra diseminado entre los plásmidos de *Enterobacteriaceae* y se ha visto que su origen es el cromosoma de *Shewanella algae*, una bacteria presente en agua y no productora de antibióticos (Poirel y col., 2005). Independientemente de si se encuentran originalmente o si su presencia es consecuencia de polución y, eventualmente, expansión entre distintos hábitats, se ha encontrado resistencia a los antibióticos en microorganismos aislados de ecosistemas prístinos no contaminados por antibióticos (Dib y col., 2008; Kobori y col., 1984), en el fondo del mar (Romanenko y col., 2008) y en animales salvajes que a diferencia de los animales de granja, no han recibido nunca antibióticos ni para terapia ni para engorde (Martinez, 2009; Wright, 2010b).

A la hora de analizar la resistencia a los antibióticos hay interpretaciones diferentes que, en muchos casos provienen de las distintas definiciones de resistencia existentes. Desde un punto de vista clínico, la definición de resistencia se basa en el punto donde la concentración mínima de un antibiótico no permite el crecimiento bacteriano (concentración mínima inhibitoria - CMI) en el lugar de la infección, de manera que un microorganismo es considerado resistente si existe una alta probabilidad de que fracase el tratamiento terapéutico con antibióticos (Turnidge y Paterson, 2007). Esta definición tiene en cuenta no sólo la sensibilidad del organismo al antimicrobiano, sino también la farmacocinética y la farmacodinámica del antibiótico, así como el tipo y localización de las infecciones producidas por el microorganismo en cuestión. Por tal razón, bacterias que presentan mecanismos de resistencia de bajo nivel, que aumentan las CMIs sin alcanzar los puntos de corte definidos clínicamente, se consideran sensibles en base a esta definición. Para poder definir más precisamente la resistencia se ha introducido recientemente una definición ecológica de la resistencia a antibióticos. Dicha definición se basa en la CMI de la población silvestre y todas las cepas que presenten CMIs por encima de la CMI modal de la población silvestre se consideran resistentes desde un punto de vista ecológico, a pesar de ser considerados sensibles desde un punto de vista clínico (Olivares y col.,

2013; Turnidge y *col.*, 2006). Una visión más amplia establece que la resistencia está representada por cualquier mecanismo que reduzca la sensibilidad a los antibióticos de un organismo (Martínez, 2008).

La resistencia de los microorganismos a los antibióticos se divide de manera general en dos grandes categorías: resistencia intrínseca y resistencia adquirida. Los dos tipos de resistencia se representan en la Figura 1. La resistencia intrínseca está definida por aquellos elementos propios de la bacteria que le confieren un fenotipo específico de sensibilidad a todas las cepas de una cierta especie (Wright, 2010a). Estos elementos no han evolucionado como consecuencia del uso reciente de antibióticos como agentes antiinfecciosos. En cambio, la resistencia adquirida se define como la obtención de un nuevo mecanismo de resistencia contra un antibiótico o una familia de antimicrobianos. Esta adquisición puede tener su origen en (a) una mutación, (b) la recombinación de dos fragmentos del cromosoma o (c) la transferencia horizontal de genes (Martínez y *col.*, 2009).

Clínicamente las bacterias son consideradas intrínsecamente resistentes si sus infecciones no pueden ser tratadas con un antibiótico dado. Las causas más comunes de resistencia intrínseca son (a) la ausencia de diana, (b) la actividad de enzimas inactivantes de antibióticos codificadas en el cromosoma y (c) una acumulación intracelular reducida del antibiótico, que puede ser por una menor permeabilidad de las cubiertas celulares o la actividad de bombas de expulsión (Fernández y Hancock, 2012; Li y *col.*, 1994; Nikaido, 1989; 1994). Del mismo modo que con la definición de resistencia, desde un punto de vista ecológico el “resistoma intrínseco” de una bacteria se ha definido como la serie de elementos que contribuye directa o indirectamente a la resistencia a antibióticos, y cuya presencia es independiente de la previa exposición al antibiótico y no se debe a transferencia horizontal de genes (Fajardo y *col.*, 2008; Olivares y *col.*, 2013; Wright, 2010a). A partir de los estudios del resistoma intrínseco de varios microorganismos, se definieron dos tipos de elementos. Aquellos cuya inactivación hace a las bacterias más resistentes a los antibióticos y aquellos cuya inactivación hace a las bacterias más sensibles (Fajardo y *col.*, 2008). Los primeros son genes que son relevantes para la adquisición de resistencia. Por ejemplo, la mutación en un represor transcripcional de una bomba de expulsión múltiple de drogas (MDR) convierte al microorganismo más resistente a los antibióticos (Alonso y

Martinez, 2000; 2001). El mapeo de estos elementos es importante para predecir la capacidad de un organismo a adquirir resistencia a antibióticos mediante mutación (Martinez y Baquero, 2000). El segundo grupo de elementos contiene los determinantes que contribuyen al fenotipo natural de sensibilidad a los antibióticos de una determinada especie, y constituye el auténtico resistoma intrínseco (Martinez, 2012). Este es el caso de las bombas de expulsión de drogas que eliminan antibióticos del interior de la célula (Olivares y col., 2013). Los diferentes elementos que se involucran en el fenotipo de resistencia de un microorganismo se ilustran en la Figura 1.



Figura 1. Los diferentes elementos de la resistencia a antibióticos.

Todas las bacterias tienen un repertorio de elementos que contribuyen a su fenotipo característico de sensibilidad a antibióticos, el cual se denominó resistoma intrínseco. Algunos de los elementos de este resistoma son los determinantes clásicos de resistencia, mientras que otros están dados por elementos del metabolismo bacteriano. La mutación en alguno de estos elementos puede incrementar o disminuir el fenotipo de sensibilidad. El fenotipo puede cambiar también mediante la adquisición de otros elementos de resistencia mediante transferencia horizontal de genes. La fijación del nuevo fenotipo depende de la presión antimicrobiana y del coste de *fitness* de los nuevos determinantes. Modificado de Olivares y col. (2013).

Además de los mecanismos descritos, enzimas inactivadoras, baja permeabilidad y sistemas de bombeo múltiple de drogas, que han sido tradicionalmente considerados como las causas de la resistencia intrínseca de las bacterias a los antibióticos (Wright, 2010b), los estudios del resistoma intrínseco de las bacterias patógenas muestran que adicionalmente a estos elementos, hay muchos otros que contribuyen al fenotipo específico de sensibilidad a los antibióticos de cada especie bacteriana. Entre ellos, existen varios elementos pertenecientes a otras categorías funcionales, incluyendo elementos del metabolismo bacteriano (Fajardo y col., 2008), que no se han estudiado en detalle en la mayoría de las cepas patógenas aisladas en los hospitales y que son un acervo génico potencial que puede contribuir a la resistencia intrínseca a antibióticos de los diferentes patógenos bacterianos.

1.1.1. Métodos predictivos de estudio de la resistencia a antibióticos

Existen diferentes métodos para el estudio de genes con capacidad de conferir resistencia a los microorganismos frente a un compuesto antimicrobiano. Estos métodos varían en su complejidad, especificidad y alcance. Existen aquellas técnicas que permiten el estudio de un único gen y otras que permiten el estudio de la totalidad del genoma de una cepa resistente. Para el estudio de genes únicos que confieren resistencia a antibióticos se han utilizado genotecas de inserción y de delección que permiten estudiar la contribución de un gen determinado a la sensibilidad de la bacteria a los antibióticos (Liu y col., 2010). El análisis de las genotecas varía en los distintos estudios. Por ejemplo, el análisis del enriquecimiento bajo presión selectiva de los mutantes de una genoteca de inserción generada con un transposón ha permitido detectar un amplio rango de mutaciones que pueden modular muchos procesos de resistencia en *Escherichia coli* (Girgis y col., 2009). Un estudio exhaustivo de una genoteca de delección en *E. coli* ha permitido definir genes que contribuyen de distinto modo a la resistencia intrínseca a 14 antibióticos, en especial ciprofloxacina (Tamae y col., 2008). Este estudio se amplió luego para 22 antibióticos y se elaboró un amplio catálogo de huellas de sensibilidad que pudieron ser divididas en 2 componentes: aquellos mutantes resistentes a múltiples drogas y aquellos que confirieron sensibilidad específica a un tipo de antibiótico (Liu y col., 2010). A su vez, se han realizado escrutinios de genotecas de inserción de

Pseudomonas aeruginosa donde se ha encontrado una batería genómica de resistencia mucho más grande que la esperada, encontrándose por ejemplo más de 100 genes de resistencia para el antibiótico ciprofloxacina (Breidenstein y col., 2008) y diferentes mecanismos de resistencia para 3 antibióticos β -lactámicos estructuralmente muy similares (Alvarez-Ortega y col., 2010). Sin embargo, el resistoma de *P. aeruginosa* para polimixina B parece contener sólo 17 genes y en la sensibilidad a este antibiótico se hallan involucrados genes relacionados con la síntesis del lipopolisacárido, cuya mutación produce una disminución de la integridad de la membrana externa y mayor entrada de los antibióticos (Fernandez y col., 2013). Una gran cantidad de estos genes codifican elementos esenciales de la fisiología bacteriana y su papel en resistencia es secundario al rol principal del gen en el hábitat natural de la bacteria implicada (Alvarez-Ortega y col., 2010; Fajardo y col., 2008; Linares y col., 2006).

A pesar de la gran información que proveen estos estudios, estos métodos no permiten estudiar cuando un gen contribuye a la resistencia pero su ausencia no produce cambios en el fenotipo de sensibilidad (genes redundantes), ni tampoco permiten estudiar los genes que confieren resistencia y cuya presencia en esa bacteria es vital (genes esenciales). El uso de genotecas de plásmidos de expresión, donde cada plásmido contiene fragmentos del genoma subsana en parte estos problemas y permite estudiar la contribución del gen clonado en la resistencia en otro microorganismo o cuando es sobreexpresado (Soo y col., 2011; Spindler y col., 2013). Una genoteca de promotores de *Salmonella typhimurium* en plásmidos de expresión demostró que concentraciones subinhibitorias de antibióticos son capaces de inducir la expresión del 5% del transcriptoma, incluyendo genes de una variedad de funciones (Goh y col., 2002).

El uso de secuenciación de alto rendimiento y las tecnologías de *microarrays* ha permitido el estudio de los determinantes de resistencia a antibióticos que se expresan diferencialmente en un cultivo con antibiótico que incluyen, entre muchos otros, genes de resistencia a los antibióticos y genes de respuesta a estrés (Brazas y Hancock, 2005; Goh y col., 2002). La expresión de estos últimos genes está afectada, probablemente de modo indirecto, por el antibiótico. Las proteínas codificadas por los mismos forman parte de mecanismos relevantes de adaptación del organismo al estrés inducido por el antibiótico. Por ejemplo, los genes de respuesta a choque térmico

ayudan a la supervivencia celular en múltiples condiciones de estrés incluyendo la presencia de antimicrobianos como las quinolonas (Krueger y Walker, 1984; Mizushima y col., 1997), además de servir para la adaptación a altas temperaturas (Brazas y Hancock, 2005; Shaw y col., 2003).

El avance en la secuenciación de genomas ha evidenciado la cantidad de genes comunes entre grupos bacterianos diferentes. Por ejemplo todas las bacterias tienen bombas de expulsión de compuestos tóxicos. Sin embargo se han encontrado determinantes de resistencia específicos en bacterias multirresistentes a antibióticos (Crossman y col., 2008; Izumiya y col., 2011; Stover y col., 2000). A pesar de los avances en la identificación de genes, el análisis bioinformático de datos derivados de secuenciación y la predicción de resistencia debe estar seguida de una validación experimental, ya que a modo de ejemplo, se han encontrado aminoglucósido kinasas y acetiltransferasas putativas que al ser expresadas heterológamente no han conferido a la bacteria resistencia a aminoglucósidos (Draker y col., 2003). Además, la secuenciación de genomas permite el estudio de mutaciones que mediante otros métodos sería muy laborioso o imposible determinar. Este tipo de aproximación ha sido fundamental en el éxito de los estudios de evolución experimental de los microorganismos bajo presión selectiva con antibióticos. El análisis de los microorganismos seleccionados por evolución experimental permite estudiar los genes que han mutado durante la exposición a concentraciones letales o subinhibitorias de antibióticos (Hughes y Andersson, 2012), así como determinar la aparición de mutaciones que compensen el coste potencialmente asociado a la adquisición de resistencia.

1.1.2. Bacterias multirresistentes a antibióticos

Uno de los problemas para el tratamiento de las infecciones es la existencia de bacterias con baja sensibilidad a una amplia variedad de antibióticos. Dentro de ellas, los microorganismos que actualmente se consideran en riesgo de “escapar” de la acción biocida de los antibióticos y de los cuales se ha obtenido mucha información sobre mecanismos de patogénesis, transmisión y resistencia son los que se han denominado como patógenos ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *P. aeruginosa* y *Enterobacter spp*)

(Rice, 2008). Un incremento en el entendimiento de la virulencia, resistencia, transmisión y patogenicidad en éstos y otros microorganismos patógenos multirresistentes a drogas permitirá el desarrollo de nuevas alternativas terapéuticas, así como el desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos (Pendleton y col., 2013).

1.1.3. Mecanismos de resistencia a antibióticos

La primera línea de resistencia de una bacteria a los antimicrobianos es su cubierta celular. En las bacterias Gram negativas, la envuelta celular, además de incluir una membrana interna también presente en las bacterias Gram positivas, incluye una membrana externa que provee una efectiva barrera física que dificulta la entrada de distintas moléculas al interior celular. En esta membrana hay porinas, utilizadas por distintos antibióticos para su entrada en la célula (Wright, 2007). Sin embargo hay bacterias como *P. aeruginosa* que presentan porinas con una permeabilidad limitada, lo que reduce la sensibilidad bacteriana a distintos antimicrobianos (Olivares y col., 2013). Gran parte del genoma de una bacteria incluye genes que codifican proteínas de transporte, como son aquellas que forman parte de bombas de expulsión. Las bombas de expulsión están compuestas por una proteína de fusión a membrana, un transportador dependiente de energía y proteínas de membrana externa. Muchos de los sistemas de expulsión de drogas como el sistema AcrAB/TolC de *E. coli* no son selectivos para una clase específica de antibióticos, si no que pueden expulsar una gran variedad de compuestos (Sulavik y col., 2001; Yu y col., 2003). Otros sistemas de expulsión son altamente específicos y se estimulan por exposición al antibiótico, como la bomba de expulsión TetA, que expulsa tetraciclina (Hillen y Berens, 1994). La entrada y expulsión de un antibiótico del interior de la célula puede estar corregulada y conectada a una red genética de proteínas auxiliares, esto ocurre por ejemplo con el regulón *mar* de *E. coli*. La exposición al antibiótico puede tener efectos pleiotrópicos en la bacteria como expresión de genes de expulsión, alteración del contenido de proteínas y porinas y modulación de la expresión de diversos genes de estrés (Aleksun y Levy, 1999; Goh y col., 2002).

Otros sistemas de resistencia son más específicos. Por ejemplo, las enzimas que inactivan los antibióticos, como las β -lactamasas y las aminoglucósido kinasas (Wright, 2005). Otro mecanismo enzimático aún más selectivo es el de modificación de blanco,

la enzima modifica la diana específica del antimicrobiano. Las mutaciones en los genes que codifican las dianas de los antibióticos, como *gyrA*, *gyrB*, *parC* y *parE* para fluoroquinolonas (Hopkins y col., 2005) y *rpoB* para rifampicina (Ohno y col., 1998) permiten evadir los efectos letales de estos antibióticos. También es frecuente que la resistencia a un tipo de antibiótico se deba a múltiples mecanismos de resistencia operando en conjunto para contribuir al fenotipo general de baja sensibilidad presente en un organismo. Por ejemplo, la bomba de expulsión SmeDEF y la proteína SmQnr contribuyen cada uno al fenotipo de resistencia intrínseca a quinolonas en *Stenotrophomonas maltophilia* (Garcia-Leon y col., 2012; Sanchez y Martinez, 2010) de modo que la inactivación de ambos elementos produce un efecto sumatorio en el aumento en la sensibilidad a quinolonas de *S. maltophilia*. Los antibióticos, su diana de acción y los mecanismos de resistencia más comunes de las bacterias hacia estos antibióticos se ilustran en la Figura 2.

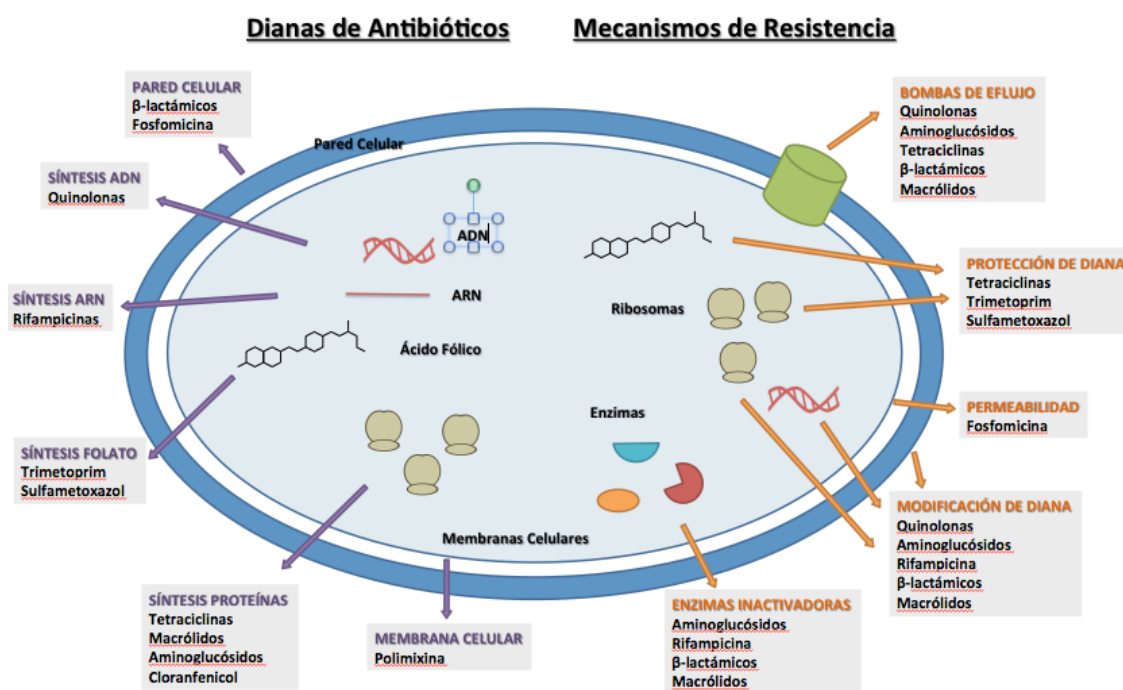


Figura 2. Dianas de los antibióticos y mecanismos de resistencia.

Los antibióticos atacan distintas dianas celulares y la bacteria se defiende de los antibióticos cambiando la permeabilidad a los mismos, modificando o protegiendo su diana o inactivando al antibiótico. Modificado de Wright (2010b)

1.2. *Stenotrophomonas maltophilia*

El género *Stenotrophomonas* fue descrito por primera vez con la bacteria *S. maltophilia* (Palleroni y Bradbury, 1993). Esta especie fue primero llamada *Pseudomonas maltophilia* por Hugh y Ryschenkow (1961) y luego fue transferida al género *Xanthomonas* (Swings y col., 1983) antes de darle su propio género (Palleroni y Bradbury, 1993). El nombre del género, del griego “stenos”, que significa estrecho, “trophus”, que significa el que se alimenta de y “monas”, que significa unidad, tenía la intención de resaltar el limitado rango nutricional de la especie bacteriana (Palleroni y Bradbury, 1993). Sin embargo, estudios posteriores demostraron que el género tiene una gran versatilidad metabólica y heterogeneidad intraespecífica (Ryan y col., 2009). Actualmente se han definido 8 especies en el género *Stenotrophomonas*: *S. maltophilia*, *Stenotrophomonas nitritireducens*, *Stenotrophomonas rhizophila*, *Stenotrophomonas acidaminiphila*, *Stenotrophomonas koreensis*, *Stenotrophomonas chelatiphaga*, *Stenotrophomonas terrae* y *Stenotrophomonas humi* (Ryan y col., 2009). Los miembros de este género se hallan distribuidos ubícuamente en el ambiente, pero los principales reservorios son el suelo y las plantas. *S. maltophilia* es una bacteria típica y muchas veces dominante en comunidades microbianas que crece dentro o sobre las plantas y tiene una distribución mundial (Denton y Kerr, 1998). A su vez, miembros de este género cumplen importantes roles ecológicos en los ciclos del sulfuro y del nitrógeno y desarrollan interacciones beneficiosas con plantas y hongos (Jakobi y col., 1996; Park y col., 2005). Dentro del género *Stenotrophomonas*, *S. maltophilia* es la única especie que es patógeno humano (Denton y Kerr, 1998; Ryan y col., 2009). Las diferentes características de miembros del género *Stenotrophomonas* se muestran en la Figura 3.

S. maltophilia es un bacilo Gram negativo no fermentativo (Hugh y Ryschenkow, 1961; Palleroni y Bradbury, 1993). Los factores patogénicos y de virulencia de esta bacteria incluyen la producción de proteasas y elastasas y la habilidad de adherirse a materiales sintéticos. En estas superficies, la bacteria forma un *biofilm* que la protege de las defensas inmunológicas del huésped y de diferentes agentes antimicrobianos (de Oliveira-Garcia y col., 2003; Di Bonaventura y col., 2004). La incidencia de aislados de *S. maltophilia* obtenidos de diferentes hospitales oscila entre 7,1 y 37,7 de cada 10000 casos de infección (Denton y Kerr, 1998; Morrison y col., 1986), y la tasa de

mortalidad asociada con la bacteremia de *S. maltophilia* oscila entre 21 y 69% (Senol y col., 2002). Este patógeno nosocomial está asociado con un amplio espectro de síndromes clínicos, incluyendo neumonía, infección del torrente sanguíneo, infecciones de la piel, infecciones en el lugar de la intervención quirúrgica, infecciones del tracto urinario, endocarditis, meningitis, infecciones intra-abdominales y endoftalmitis (Denton y Kerr, 1998; Nicodemo y Paez, 2007). Además de estar implicada en infecciones hospitalarias, *S. maltophilia* coloniza frecuentemente a pacientes con fibrosis quística (de Vrankrijker y col., 2010).

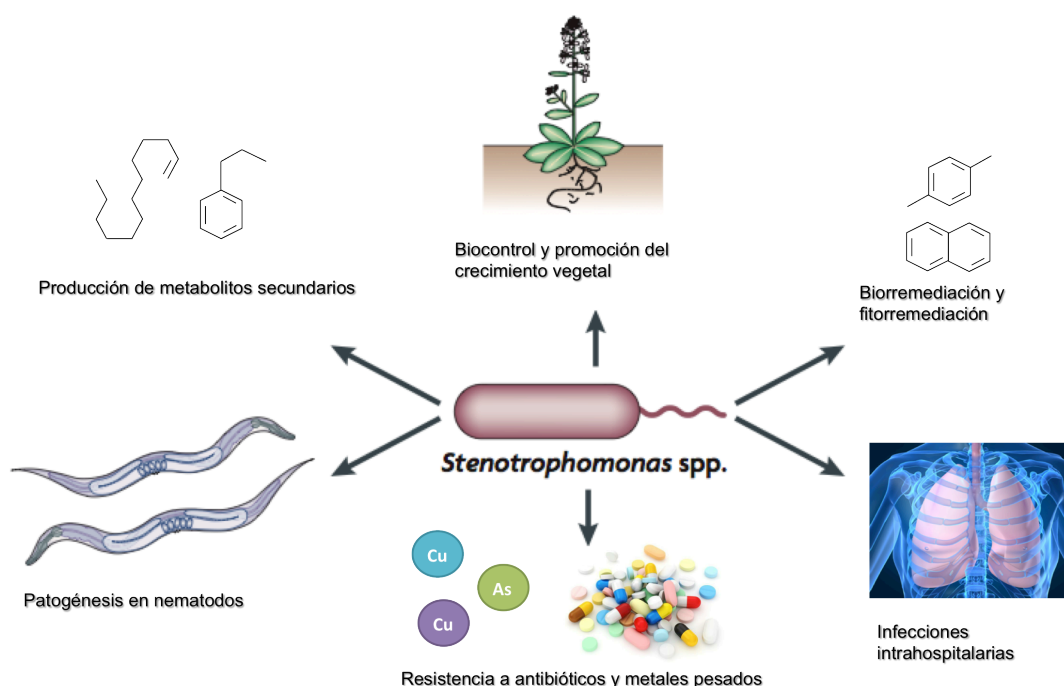


Figura 3. Versatilidad del género *Stenotrophomonas*.

Especies del género *Stenotrophomonas* pueden ser utilizadas en diferentes procesos biotecnológicos. Algunas especies producen metabolitos secundarios y compuestos antimicrobianos que protegen las plantas o generan factores que promueven su crecimiento. Además muchas *Stenotrophomonas* spp. presentan altos niveles de resistencia intrínseca a metales pesados y antibióticos y degradan una gran cantidad de compuestos, incluyendo contaminantes, y pueden ser utilizadas en biorremediación y fitorremediación. *S. maltophilia* es conocida por producir enfermedades humanas por su habilidad de colonizar pacientes inmunodeprimidos, y se ha visto que es virulenta en modelos de nematodos. Modificado de Ryan y col. (2009).

El tratamiento de las infecciones causadas por *S. maltophilia* es difícil debido a, entre otras razones, los mecanismos de resistencia intrínseca presentes en la bacteria contra casi la mayoría de los agentes antimicrobianos y la habilidad de la misma de desarrollar resistencia durante el tratamiento (Denton y Kerr, 1998; Nicodemo y col., 2004). *S. maltophilia* exhibe altos niveles de resistencia intrínseca a una gran variedad de antimicrobianos no relacionados que incluyen β -lactámicos, aminoglucósidos, tetraciclinas, quinolonas, desinfectantes y metales pesados (Sanchez y col., 2009). Las CMI de algunos de estos antibióticos para una cepa de *S. maltophilia* se muestran en la Tabla 1 publicadas por Alonso y Martinez (1997).

Tabla 1. CMIs de *S. maltophilia* a algunos antibióticos según Alonso y Martinez (1997).

Antibiótico	CMI ($\mu\text{g/ml}$)
Tetraciclina	6
Cloranfenicol	1,5
Ciprofloxacina	0,75
Ácido nalidíxico	8
Norfloxacina	6
Imipenem	200
Ticarcilina-clavulánico	4
Amikacina	24

La secuenciación del genoma de las cepas clínicas de *S. maltophilia* K279a (Crossman y col., 2008) y D457 (Lira y col., 2012) y las cepas ambientales R551-3 (Lucas y col., 2008) y JV3 (Lucas y col., 2011) indicó que los elementos involucrados en el fenotipo de resistencia de esta especie bacteriana son compartidos por cepas aisladas de diferentes hábitats, y que por lo tanto han evolucionado antes del uso de antibióticos en terapia humana. En estos genomas se encontraron una gran cantidad de genes codificantes de determinantes de resistencia a los antibióticos (Crossman y col., 2008). Además, se han encontrado agrupaciones de genes de resistencia a antibióticos en *S. maltophilia* que fueron adquiridas por transferencia horizontal de genes de bacterias Gram positivas (Alonso y col., 2000).

1.2.1. Mecanismos de resistencia a antibióticos en *S. maltophilia*

S. maltophilia presenta altos niveles de resistencia intrínseca a los antibióticos. Como se ha indicado con anterioridad, las cepas secuenciadas de esta bacteria contienen gran número de genes, no asociados a elementos móviles, que codifican determinantes de resistencia a antibióticos y metales pesados. Entre ellos: aminoglucósido fosfotransferasas, aminoglucósido N-acetiltransferasas, cloranfenicol acetiltransferasas, β -lactamasas, transportadores MDR (dos de tipo MFS, dos de tipo ABC y ocho RND) y proteínas de resistencia a kasugamicina, cobre, arsénico y mercurio (Crossman y col., 2008).

La resistencia de *S. maltophilia* a los antibióticos β -lactámicos se debe a la expresión de dos β -lactamasas inducibles: L1 y L2. L1 inactiva todos los antibióticos β -lactámicos excepto los monolactámicos (Avison y col., 2002). L2 es una β -lactamasa que es inhibida por ácido clavulánico (Walsh y col., 1997). Estas β -lactamasas cromosomales son inducidas por la presencia de antibióticos β -lactámicos y su producción es controlada por el regulador AmpR (Okazaki y Avison, 2008).

La resistencia de *S. maltophilia* a los antibióticos aminoglucósidos se debe fundamentalmente a la expresión de enzimas modificadoras de aminoglucósidos y a cambios en las proteínas de la membrana externa. La enzima aminoglucósido acetiltransferasa AAC(6')-Iz y la aminoglucósido fosfotransferasa APH (3')-IIc son enzimas modificadoras de aminoglucósidos codificadas en el cromosoma. La primera confiere resistencia a amikacina, tobramicina, netilmicina y neomicina (Li y col., 2003) y la segunda confiere resistencia a kanamicina, neomicina, paromomicina y butirosina (Okazaki y Avison, 2007). *S. maltophilia* puede variar su sensibilidad a los aminoglucósidos alterando el tamaño del O-polisacárido y el contenido de fosfato del lipopolisacárido a diferentes temperaturas, mostrando una mayor resistencia a aminoglucósidos y polimixina B a 30°C que a 37°C (McKay y col., 2003).

La resistencia intrínseca a una gran cantidad de agentes antimicrobianos en *S. maltophilia*, así como también en otros microorganismos Gram negativos no fermentadores es provista, entre otros elementos, por la actividad de un gran número de bombas de expulsión de drogas codificadas en el cromosoma (sistemas MDR). Los sistemas de bombeo mejor caracterizados en *S. maltophilia* son las bombas de

expulsión de tipo RND (*resistance nodulation cell division*) SmeABC (Zhang y col., 2000) y SmeDEF (Alonso y Martinez, 2000).

Todo este arsenal cromosómico de elementos de resistencia junto con una membrana de baja permeabilidad son responsables de un fenotipo intrínseco multirresistente que es independiente del medio en el que vive la bacteria (Mett y col., 1988).

1.2.2. Resistencia a quinolonas en *S. maltophilia*

Las quinolonas son antibióticos sintéticos de amplio espectro descubiertos durante la búsqueda de cloroquinas para tratar la malaria (Deitz y col., 1963). Su actividad antibacteriana se basa en la unión del antibiótico al complejo ADN-Girasa (Shen y col., 1989) o ADN-Topoisomerasa IV con lo que se impide la replicación y la transcripción bacteriana (Tran y col., 2005).

Particularmente importante es la resistencia que *S. maltophilia* presenta a quinolonas. Esta baja sensibilidad se atribuye en parte a la baja permeabilidad de la membrana externa (Ba et al., 2004) y a la actividad de sistemas MDR (Alonso y Martinez, 2001). Ensayos *in vivo* e *in vitro* descartaron que, a diferencia de lo que ocurre en otras bacterias Gram negativas, la disminución de susceptibilidad a estos antibióticos se debiera a mutaciones en los genes de topoisomerasas *gyrA*, *gyrB*, *parC* o *parE* que son las dianas de estos antibióticos (Valdezate y col., 2005; Vila y Marco, 2010).

Se ha demostrado que la bomba SmeDEF contribuye a la resistencia intrínseca y a la resistencia adquirida en *S. maltophilia* a distintos antibióticos, incluyendo las quinolonas (Alonso y Martinez, 2001; Zhang y col., 2001). El gen *smeT* codifica el represor local de la bomba SmeDEF. Se ha determinado que muchos aislados clínicos resistentes a una variedad de antibióticos sobreexpresan la bomba SmeDEF como consecuencia de mutaciones en el regulador *smeT* (Sanchez y col., 2002; 2004). Mutaciones en componentes de la bomba SmeABC no afectan la sensibilidad a antibióticos, excepto ciertas mutaciones en el gen *smeC* que codifica la porina en la bomba, siendo posible por tanto que esta porina forme parte de otro sistema de expulsión además de la bomba SmeABC (Li y col., 2002). Se han identificado otros genes que codifican componentes de otras bombas que contribuyen a la resistencia

intrínseca de *S. maltophilia*: SmeZ, SmeJ y SmeK (Crossman y col., 2008; Gould y col., 2013). Recientemente se ha encontrado que la resistencia de un mutante a múltiples drogas se debe a un nuevo sistema de bombeo denominada SmeVWX. El operón de esta bomba está compuesto de 5 genes: *smeU1-V-W-U2-X* y de un regulador localizado fuera del operón, *smeRv* (Chen y col., 2011). Mutaciones en este regulador resultan en la sobreexpresión de esta bomba y son la causa de la resistencia a quinolonas cuando SmeDEF no está sobreexpresada en *S. maltophilia* (Garcia-Leon y col., 2014).

Por último, *S. maltophilia* presenta un gen de la familia de las proteínas Qnr (*quinolone resistance*), denominado *Smqnr*, cuya expresión se encuentra regulada por la proteína SmQnrR, codificada en el gen *SmqnrR*, ubicado por delante del gen *Smqnr* en dirección opuesta (Chang y col., 2011). El gen *qnr* codifica la proteína Qnr (Martinez-Martinez y col., 1998) que se une a la girasa y a la topoisomerasa IV (Tran y col., 2005) protegiéndolas de la acción del antibiótico de una forma que aún no es bien entendida. Los genes *qnr* otorgan resistencia a quinolonas y se han identificado inicialmente en plásmidos, ampliamente distribuidos entre una gran variedad de patógenos bacterianos (Poirel y col., 2006; Strahilevitz y col., 2007; Wu y col., 2007). En los últimos años se identificó este gen en el cromosoma de diversas bacterias acuáticas y metagenomas de microorganismos marinos, sugiriendo que estos organismos pueden ser el origen de los *qnr* plásmidicos, como se ha demostrado en el caso del gen *qnrA1* en *S. algae* (Poirel y col., 2005), *qnrS* en *Vibrio splendidus* (Cattoir y col., 2007), así como el de *qnrB* en *Citrobacter* spp. (Jacoby y col., 2011). La adquisición de los genes *qnr* por transferencia horizontal de genes en otros patógenos bacterianos, podría deberse a la presión de selección por el uso de quinolonas. A diferencia de lo que ocurre con los genes *qnr* plásmidicos, *Smqnr* se ha encontrado en el cromosoma de todas las cepas de *S. maltophilia* estudiadas indicando que no ha sido adquirido como consecuencia de una presión selectiva reciente por quinolonas (Sanchez y col., 2008). Por esta razón y debido a que esta bacteria comparte nicho con otros patógenos que son receptores potenciales de genes *qnr* por transferencia horizontal, *S. maltophilia* podría tener un cierto potencial para transferir genes *qnr*.

1.3. Mecanismos de estrés y resistencia a antibióticos

Como se ha indicado anteriormente, además de los determinantes clásicos de

resistencia a los antibióticos, hay muchos genes, codificantes de elementos básicos de la fisiología bacteriana, cuya inactivación cambia el fenotipo de sensibilidad a los antibióticos de las bacterias patógenas. Dentro de los elementos que podrían contribuir a la resistencia a los antimicrobianos se encuentran los elementos de respuesta a estrés. Cuando las células son expuestas a estreses como altas temperaturas o agentes químicos se inducen en las bacterias los sistemas de protección antiestrés. La variación de temperatura es uno de los más importantes factores de estrés. Un aumento de temperatura induce en la bacteria la respuesta a choque térmico que permite a las células adaptarse y sobrevivir en condiciones térmicas de estrés a través de la actividad de termosensores como las chaperonas moleculares (Schumann, 2007). Las proteínas de respuesta a choque térmico incluyen las chaperonas de los sistemas DnaK/DnaJ/GrpE, GroEL/GroES y IbpA/IbpB y las proteasas dependientes de ATP Lon, ClpXP y HslVU. Mientras que las chaperonas son sintetizadas abundantemente, los niveles de proteasas son relativamente bajos hasta en condiciones de inducción (Yamaguchi y col., 2003). Las chaperonas y las proteasas son esenciales para el plegamiento *de novo* y el control de calidad de las proteínas, actuando para prevenir la agregación de proteínas y volviendo a plegar o degradando las proteínas mal plegadas (Tomoyasu y col., 2001).

GrpE es un factor de intercambio de nucleótidos que promueve la disociación de ADP del sitio de unión a nucleótidos de DnaK y actuando junto con la cochaperona DnaJ controla el flujo de proteínas mal plegadas dentro y fuera del sitio de unión de sustratos de DnaK (Harrison, 2003). En *S. maltophilia*, el gen que codifica GrpE se ubica al lado de los genes codificantes de DnaK y DnaJ y todos se transcriben en la misma dirección, con *dnak* y *dnaj* formando un operón bicistrónico (Crossman y col., 2008). Un estudio más detallado del genoma revela la presencia de secuencias promotoras delante de *grpE* y *dnak*, confirmando que *grpE* no es parte del operón *dnak-dnaj* (De Carolis y col., 2011). La chaperonina GroEL de *E. coli*, acompañada de su cochaperonina GroES, es una de las más y mejor estudiadas de las chaperonas moleculares (Lin y Rye, 2006). Homólogos de este sistema están presentes en casi todos los organismos (Singh y Gupta, 2009). Estructuralmente, GroEL consiste en dos anillos heptaméricos de dos subunidades de 57 kDa idénticas, mientras que GroES es un solo anillo heptamérico de subunidades de 10 kDa idénticas. Según los datos de la secuencia, los genes *groES* y

groEL de *S. maltophilia* forman un operón (De Carolis y col., 2011).

En *E. coli* el daño en el ADN debido al tratamiento con antibióticos como ácido nalidíxico y fluoroquinolonas inducen en la bacteria respuestas de choque térmico y la activación del sistema SOS (Krueger y Walker, 1984; Mizushima y col., 1997; VanBogelen y col., 1987). Además, inhibidores de DnaK (Credito y col., 2009) o mutantes en *dnaK*, *groEL* y *lon* (Yamaguchi y col., 2003) aumentan la susceptibilidad de la bacteria a fluoroquinolonas, lo que indica que la activación del sistema de choque térmico podría jugar un papel importante en la protección de las bacterias frente a la acción de las quinolonas.

A partir de la información presentada, considerando la gravedad de la emergencia de resistencia a antimicrobianos en los microorganismos patógenos, y la necesidad consecuente de estudiar estos mecanismos para el desarrollo de nuevas estrategias para combatir estos microorganismos, nos planteamos para esta tesis los objetivos que se presentan a continuación.

OBJETIVOS

2. Objetivos

- Buscar nuevos mutantes de resistencia a antibióticos en *S. maltophilia*.
- Determinar los genes cuya inactivación puede incrementar la resistencia a los antibióticos en *S. maltophilia* y las bases moleculares de los mecanismos de resistencia de dichos mutantes.
- Determinar el efecto de dichas mutaciones en el *fitness* de *S. maltophilia*.

MATERIALES Y MÉTODOS

3. Materiales y Métodos

3.1. Cepas bacterianas y plásmidos

Para la realización de este trabajo se empleó la cepa silvestre D457 de *S. maltophilia* obtenida de un aspirado bronquial en 1992 (Alonso y Martínez, 1997).

Los mutantes empleados son mutantes de inserción que fueron obtenidos mediante selección con distintos antibióticos como se describe más adelante. La cepa FSV46 es un mutante de inserción resistente a antibióticos obtenido en el laboratorio mediante selección con ácido nalidíxico (Salgado-Villagrán, 2011). Como herramientas de clonaje y expresión se han empleado las cepas de *E. coli* que se describen en la Tabla 2.

Tabla 2. Cepas de *S. maltophilia*, *E. coli* y *P. aeruginosa*.

Cepa	Descripción ^a	Referencia/Origen
<i>S. maltophilia</i>		
D457	Aislado en enero 1992 de un aspirado bronquial	(Alonso y Martínez, 1997)
FSV46	Mutante de inserción de D457	(Salgado-Villagrán, 2011)
FSV47	Mutante de inserción de D457	(Salgado-Villagrán, 2011)
Mutantes genotecas	Mutantes de inserción de D457	Este trabajo
<i>E. coli</i>		
TG1	Cepa huésped para transformaciones utilizada en clonaje. K-12 <i>supE</i> 44 <i>thi-1</i> $\Delta(lac- pro AB)$ $\Delta(mcrB- hsdS M)5$, (<i>rK- mK-</i>).	(Sambrook y Russell, 2001)
DH5α	Cepa huésped para transformaciones utilizada en clonaje. <i>supE</i> 44 Δlac U169 ($\Phi 80 lacZ \Delta M15$) <i>hsdR</i> 17 <i>recA</i> 1 <i>endA</i> 1 <i>gyrA</i> 96 <i>thi-1 relA</i> 1.	(Sambrook y Russell, 2001)
Ec1047 (pRK2013)	Cepa auxiliar para conjugaciones tripartitas (Kan^r). Contiene el plásmido pRK2013 para la movilización de plásmidos.	(Figurski y Helinski, 1979)
CC118λpir	CC118 lisogenizada con el fago λ pir. Cepa huésped para la conjugación. $\Delta(ara-leu)$, <i>araD</i> , $\Delta lacX74$, <i>galE</i> , <i>phoA20</i> , <i>thi-1</i> , <i>rpsE</i> , <i>rpoB</i> , <i>argE</i> (Am), <i>recA1</i> .	(Herrero y col., 1990)
<i>P. aeruginosa</i>		
PA14	Cepa silvestre de origen clínico conservada en Marsella	IBSM-CNRS (Marsella)
PA14 mutante RNasaG (34133)	Mutante de inserción de PA14 generado con el transposón MAR2XT7 (Gen^r)	(Liberati y col., 2006)

^a: Kan^r , kanamicina resistente; Gen^r , gentamicina resistente

Los plásmidos utilizados a lo largo de este trabajo se describen en la Tabla 3.

Tabla 3. Plásmidos empleados a lo largo de este trabajo.

Plásmido	Descripción ^a	Referencia/Origen
pGEM-T Easy	Vector comercial para clonar productos de PCR (Amp ^r)	Promega
pGEMT-RNasaG	Plásmido derivado de pGEMT-Easy que lleva el gen <i>rnG</i> (SMD_3054) de <i>S. maltophilia</i>	Este trabajo
pGEMT-ATPasa	Plásmido derivado de pGEMT-Easy que lleva el gen de la AAA-ATPasa (SMD_2116) de <i>S. maltophilia</i>	Este trabajo
pGEMT-WallAP	Plásmido derivado de pGEMT-Easy que lleva el gen de la Proteína asociada a pared (SMD_0049) de <i>S. maltophilia</i>	Este trabajo
pVLT33	Plásmido de expresión (Kan ^r) con el sistema <i>lacIq-Ptac</i> . Bajo número de copia (ori RSF1010)	(de Lorenzo y col., 1993)
pSEVA234	Plásmido de expresión (Kan ^r) con el sistema <i>lacIq-Ptrc</i> . Mediano número de copia (ori pBBR1)	(Silva-Rocha y col., 2013)
pBA01	Derivado de pVLT33, contiene el gen <i>rnG</i> (SMD_3054) de <i>S. maltophilia</i>	Este trabajo
pBA02	Derivado de pSEVA234, contiene el gen de la AAA-ATPasa (SMD_2116) de <i>S. maltophilia</i>	Este trabajo
pBA03	Derivado de pSEVA234, contiene el gen de la Proteína asociada a pared (SMD_0049) de <i>S. maltophilia</i>	Este trabajo

^a: Kan^r, kanamicina resistente; Amp^r: ampicilina resistente

3.2. Soluciones de antibióticos y otros compuestos

Las condiciones de preparación de las soluciones madre de los productos se detallan a continuación. La concentración de uso de cada uno de ellos dependió de cada experimento.

Ácido nalidíxico: se preparó en una solución 0.1 N NaOH a una concentración de 30 mg/ml.

Ampicilina: se preparó en agua a una concentración de 100 mg/ml.

Kanamicina: se preparó en agua a 50 mg/ml.

Tetraciclina: se preparó en etanol al 80% a 20 mg/ml.

Rifampicina: se preparó en DMSO a 30 mg/ml.

Sulfametoxazol: se preparó en etanol a 25 mg/ml.

Trimetoprim: se preparó en una solución etanol:cloroformo (1:1) a 25 mg/ml.

Gentamicina: preparado comercial a 40 mg/ml (Normon).

Polimixina (B sal de sulfato): se preparó en agua a 40 mg/ml.

Fosfomicina (sal de disodio): se preparó en agua a 50 mg/ml.

IPTG: se preparó en agua a una concentración de 0,5 M.

X-gal: se preparó en DMSO a una concentración de 25 mg/ml.

H₂O₂: preparado comercial a 0,8892 M (Foret).

Paraquat: se preparó en agua a una concentración 0,5 M.

3.3. Medios de cultivo y condiciones de cultivo

Los medios de cultivo empleados para el crecimiento de las cepas bacterianas fueron los medios ricos Luria-Bertani (LB) (Pronadisa) y Mueller Hinton (MH) (Pronadisa) descritos previamente (Atlas, 1993). Cuando fue necesario se añadieron antibióticos a las concentraciones indicadas en cada caso.

Las cepas de *E. coli* y *P. aeruginosa* fueron cultivadas de forma rutinaria en medio LB a 37°C con agitación constante de 250 rpm. A menos que se indique lo contrario, las estirpes de *S. maltophilia* fueron cultivadas en matraces de 100 ml que contenían 25 ml de medio LB, a 37°C y una agitación constante de 250 rpm.

En los experimentos para estudiar el crecimiento y determinar el tiempo de duplicación en medio mínimo con antibiótico o diferentes fuentes de carbono (20 mM de citrato, glicerol, glicerol 3-fosfato, gluconato, glucosa, glucosa 6-fosfato, manitol y succinato), se utilizó un medio mínimo para *S. maltophilia* descrito por Boethling (1975) que contiene K₂HPO₄·3H₂O 500 mg/ml, KH₂PO₄ 500 mg/ml, (NH₄)₂HPO₄ 800 mg/ml, MgSO₄·7H₂O 200 mg/ml, CaCl₂·2H₂O 53 mg/ml, MnSO₄·H₂O 0,85 mg/ml, L-metionina 0,5 mM suplementado con 0,1% de casaminoácidos y 10 µM de citrato de hierro amónico. Las soluciones madre de sales se autoclavaron y las de moléculas orgánicas se filtraron a través de filtros de 0,22 µm (Millipore), luego se guardaron a 4°C y el medio se preparó cada día de su utilización. Estos experimentos se realizaron en un lector de microplacas Infinite200 (Tecan).

Para los ensayos de motilidad se usaron los siguientes medios (Rashid y Kornberg, 2000): para *swimming* (10 g/l de triptona difco, 5 g/l de NaCl con 0,3% (p/v) agar Gibco/BRL); *swarming* (8 g/l de Nutrient Broth, 5 g/l de glucosa y 0,5% agar Difco) y *twitching* (LB, agar Difco 1%).

Para los ensayos de choque térmico se utilizó medio LB, matraces de 100 ml con 25 ml de cultivo y con una concentración de ácido nalidíxico de 48 µg/ml cuando se indica. A tiempo cero los cultivos con una DO de 0,6 se diluyeron 1:10 y se incubaron a 37 o 42°C con agitación. A los 10 min se extrajeron alícuotas para extracción de ARN y cada 30 min se extrajeron alícuotas para contar unidades formadoras de colonias (UFC), con estos valores se establecieron las curvas de mortalidad.

3.4. Determinación de la concentración mínima inhibitoria, sensibilidad a antibióticos y estrés oxidativo

Para la determinación de la sensibilidad a antibióticos de las distintas cepas, se utilizaron discos de antibióticos comerciales (Oxoid) y se siguió el procedimiento indicado por el fabricante. Para determinar la sensibilidad a fosfomicina sin glucosa 6-fosfato (inductor presente en los discos comerciales), a H₂O₂ y a paraquat se utilizaron discos estériles de papel 3MM de 10 mm de diámetro que fueron embebidos con la solución madre, se dejaron secar y se colocaron sobre agar MH luego de esparcir el cultivo.

Las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) del crecimiento bacteriano se determinaron por el método de microdilución en líquido o mediante EpsilonTest® (E-test). Para los ensayos de determinación de la CMI mediante E-test (Biomérieux) se utilizó agar MH y se siguió el procedimiento indicado por el fabricante. Las CMIs determinadas mediante el método de microdilución se realizaron en medio MH y se establecieron según las recomendaciones del CLSI (1997). Para ello, se realizaron diluciones seriadas 1:2 de cada uno de los compuestos en placas de 96 pocillos. La CMI se determinó como aquella concentración más baja que inhibe el crecimiento visible de la bacteria después de una incubación a 37°C durante 24 horas.

3.5. Ensayos de motilidad

Según el tipo de motilidad que se midiera se procedió de diferente modo (Rashid y Kornberg, 2000):

Swimming: con un palillo se cogió una colonia de una placa crecida en LB agar a 37°C durante 24 horas, se sembró la placa de *swimming* y se incubó ON a 30°C.

Swarming: las placas con el medio específico de *swarming* se dejaron secar ON a

temperatura ambiente. Al día siguiente se tomó una muestra de la cepa crecida en la placa de *swimming*, se sembró la placa de *swarming* y se incubó a 30°C ON.

Twitching: de una placa crecida en LB agar a 37°C ON se tomó una colonia, se sembró en la placa de *twitching* atravesando el agar y la placa se dejó incubando durante 48 horas a 37°C. Al cabo de 48 horas se retiró el medio de la placa y se incubó con una solución de cristal violeta al 0,1% en etanol durante 1 minuto. Posteriormente, se lavó la placa y se observó el halo de movimiento de la bacteria.

Se realizaron 10 réplicas de cada placa y se midió el diámetro de los halos producto del movimiento de la bacteria.

3.6. Escrutinio de genotecas y fenotipo de los mutantes

Los antibióticos seleccionados para obtener mutantes resistentes fueron: sulfametoxazol, trimetoprim, fosfomicina, polimixina B y gentamicina. En primer lugar se determinó la CMI de la cepa silvestre para estos antibióticos. A partir de estos datos se determinó en placa la concentración de antibiótico a la cual la cepa silvestre no crecía. Esa concentración y el doble de la misma fueron las concentraciones de antibióticos que se utilizaron para realizar el escrutinio de las genotecas. Se sembraron 10.000 UFC en placas de Petri p150 en medio MH con antibiótico y se recogieron al azar hasta un máximo de 75 colonias. Estas colonias se replicaron en 3 placas de LB: una con la misma concentración de antibiótico usado en la selección, otra con 20 µg/ml de tetraciclina y otra sin antibiótico. Diez de las colonias que crecieron en las 3 placas se guardaron en glicerol es como mutantes resistentes.

Para determinar el fenotipo de los mutantes seleccionados se analizó su sensibilidad a antibióticos de diferentes familias utilizando discos de los siguientes antibióticos: cloranfenicol, gentamicina, cotrimoxazol (sulfametoxazol:trimetoprim 19:1), tigeciclina, norfloxacin a, tobramicina, eritromicina y levofloxacin a. Los fenotipos de los mutantes seleccionados fueron comprobados por E-test.

3.7. Soluciones para el análisis de ácidos nucleicos

Tampón TE: Tris-Cl 10 mM pH 8 y EDTA 1 mM pH 8.

Tampón de carga 6x: azul de bromofenol 0,25%, glicerol 30%.

Tampón TAE 10x: Tris-acetato 40 mM y EDTA 10 mM.

3.8. Técnicas de ADN

3.8.1. Técnicas generales

La extracción de ADN genómico fue realizada con el kit comercial G-nome DNA Kit® (MP Biomedicals) siguiendo las instrucciones del fabricante.

El ADN plasmídico fue extraído utilizando el sistema de purificación comercial QIAprep Spin Miniprep Kit (QIAGEN).

La purificación de fragmentos de ADN de geles de agarosa se realizó con el *Gel Band purification kit* (GE Healthcare), mientras que para la purificación de fragmentos a partir de una reacción de PCR se usó el sistema *QIAquick PCR purification Kit* (QIAGEN).

Las digestiones con enzimas de restricción se realizaron con los tampones y las indicaciones de la casa comercial New England BioLabs.

En el caso de las ligaciones se utilizó la enzima T4 DNA ligasa (New England BioLabs) y la reacción se incubó por 18 horas a 16°C.

Las electroforesis en geles de agarosa se hicieron siguiendo los protocolos establecidos previamente por Sambrook y Russell (2001).

3.8.2. Reacción de PCR

Los cebadores utilizados en esta tesis se detallan en la Tabla 4.

Las amplificaciones rutinarias por PCR fueron realizadas con el sistema PCR master mix (Promega) y DNA AmpliGel Plus Master Mix (Biotools). Se utilizó como molde ADNg, ADN plasmídico o colonias individuales (PCR de colonia). Los cebadores se utilizaron a una concentración final de 0,5 ó 1 µM y se utilizó entre 100 y 500 ng de ADN molde. Se utilizaron distintas condiciones de reacción según el fragmento a amplificar, variando la temperatura de hibridación según la T_m de los cebadores y el tiempo de elongación según la longitud del fragmento a amplificar. Las condiciones de la reacción fueron las siguientes: 10 min a 94°C; 30 ciclos de: 94°C por 30 segundos, 30 segundos a 55-60°C (dependiendo de la T_m de los cebadores) y de 30 segundos a 5 min a 72°C (en función de la longitud del fragmento que se desee amplificar). Para finalizar, se realizó una extensión final de 10 min a 72°C.

El sistema *Expand Long Template PCR* (Roche) se utilizó para determinar la posición del transposón MiniTn5 Tc en el genoma de *S. maltophilia* mediante PCR inversa. Para obtener el ADN molde para la PCR inversa se digirió 1 µg de ADN_g en 100 µl de reacción utilizando la enzima de restricción *Pst*I. La enzima de restricción se eligió con el objetivo que corte el ADN_g de manera que los fragmentos resultantes sean en promedio de unos 1000 pb, para que puedan circularizar y ser moldes de PCR. Los fragmentos de restricción se recircularizaron (100 ng de los fragmentos de restricción en 200 µl de reacción) con T4 DNA ligasa. El ADN ligado se precipitó y todo el ADN se utilizó como molde para la reacción de PCR inversa. Los cebadores utilizados, Tn5 A2/3 (Tabla 4) hibridan en los extremos del transposón MiniTn5 Tc y no hibridan en el genoma de *S. maltophilia* D457. Los ciclos empleados fueron: 2 min a 95°C y, posteriormente, 30 ciclos de: 10 segundos a 95°C, 30 segundos a 55°C y 6 min a 68°C, más una extensión adicional de 7 min a 68°C.

Tabla 4. Cebadores empleados a lo largo de este trabajo

Cebadores	Secuencia	Descripción/función	T _m
Tn5 A3	GCCTTGATGTTACCCGAGAGC	Para PCR inversa	66.9
Tn5 A2	AAAATCTAGCGAGGGCTTTAC	Para PCR inversa	60.3
PA Rnasa1	GGTGGTGGAAAACGGCGTCC	Para amplificar RNasaG PA14	72.8
PA Rnasa2	ACTGGTGCGCGGCATGTAC	Para amplificar RNasaG PA14	69.6
RnasaF	CGGAATCCCCGATGTCTGAGGAA	Para clonar RNasaG + diana <i>Eco</i> RI	60
RnasaR	AGAACGACATCGAATTGCTC	Para clonar RNasaG + diana <i>Hind</i> III	61.8
Tet2R	CCCAAGCTTGGATCAGAGCAGAA	Para amplificar gen <i>tet</i> ^r de MiniTn5 Tc	66.2
Tet3R	CAGCCTAACTTCGATCATTGGAC	Para amplificar gen <i>tet</i> ^r de MiniTn5 Tc	65.7
ATPasaBam	CGGGATCCTACCGTTGGGCGGC	Para clonar AAA-ATPasa + diana <i>Bam</i> HI	79.1
ATPasa F	CGGAATTCTACCGTTGGGCGGCG	Para clonar AAA-ATPasa + diana <i>Eco</i> RI	78.4
Wall F	CGGAATTCTTGACAACGCGAAGC	Para clonar Proteína asociada a pared + diana <i>Eco</i> RI	72.3
Wall R	CCCAAGCTTGTTCAGTTTGCGG	Para clonar Proteína asociada a pared + diana <i>Hind</i> III	73.4
Sme27^a	TGCCAGCGACAGTGCAAAGGGTC	Amplifican región específica de <i>S. maltophilia</i>	76,3
Sme48^a	CCGTGTTTCATGGAAGCAGGC	Amplifican región específica de <i>S. maltophilia</i>	70,1
227^b	GAACGCTCGGTTGCCGC	Para amplificar gen <i>kan</i> ^r de pSEVA234	55
273^b	AATGACCCCGAAGCAGGG	Para amplificar gen <i>kan</i> ^r de pSEVA234	55

^a Sanchez y col. (2002)

^b Silva-Rocha y col. (2013)

Debido a que la polimerasa del sistema *Expand Long Template PCR* tiene una tasa de error mucho más baja que la Taq polimerasa, se utilizó el sistema *Expand Long Template PCR* para amplificar los genes para clonaje a partir de ADNg de la estirpe silvestre. Estos genes fueron: *rnG*, SMD_2116 (AAA-ATPasa) y SMD_0049 (Proteína asociada a pared). La temperatura de hibridación dependió de la T_m de los cebadores y el tiempo de elongación de la longitud de los genes.

Los productos de PCR se secuenciaron en el Servicio de Secuenciación del Parque Científico de Madrid (www.fpcm.es) o en Macro gen The Netherlands (www.macro gen.com).

3.9. Técnicas de ARN

3.9.1. Extracción de ARN

El ARN se extrajo en fase exponencial (DO 0,6). Para ello, a partir de un cultivo ON se inocularon matraces a DO 0,01 y se dejaron crecer a una DO de 0,6. Con el fin de sincronizarlos se volvieron a inocular a una DO de 0,01 y se dejaron crecer nuevamente hasta una DO de 0,6 para extraer ARN.

Para los ensayos de tiempo de vida media de los ARN, cuando los cultivos estuvieron sincronizados se trataron con 200 µg/ml de rifampicina, se mantuvieron a 37°C con agitación y se interrumpió el crecimiento de los cultivos luego de 0, 5, 10 y 15 min de la incubación con rifampicina para extraer ARN.

La extracción de ARN se realizó según Schuster y col. (2003). Diez ml del cultivo total fueron centrifugados a 7200 x g durante 20 min a 4°C. En los casos en que el ARN iba a ser utilizado para secuenciación masiva, las muestras fueron tratadas durante 10 min con RNAProtect® (QUIAGEN) en una relación 1:1 antes de la centrifugación. El sedimento celular se resuspendió en 570 µl de tampón TE. Posteriormente se adicionaron 30 µl de lisozima (30 mg/ml) y la mezcla se incubó a temperatura ambiente durante 10 min siendo agitada de forma intermitente con un vórtex. A continuación, se agregaron 2100 µl de tampón RLT (QUIAGEN) con β-mercaptoetanol al 1% y la muestra fue sometida a ultrasonido en 3 ciclos de 20 segundos (frecuencia constante, 0,45 Hz de potencia). Posteriormente se agregaron 1410 µl de etanol 100% (Merck), se mezcló y se continuó con el protocolo del sistema de extracción RNeasy

mini Kit (QIAGEN).

Para eliminar la contaminación por ADN se realizó un primer tratamiento con DNasa de la muestra en una columna de RNeasy, de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Adicionalmente, se procedió a realizar una segunda digestión utilizando el sistema TURBO DNase (Ambion). Las muestras fueron filtradas nuevamente a través de una columna de RNeasy para eliminar cualquier traza de DNasa (Protocolo de *Clean Up*).

Para verificar que la muestra de ARN no estuviese contaminada con ADN, se realizó una PCR utilizando los cebadores Sme27/Sme48 que amplifican un fragmento de 360pb de la región intergénica SmeT-SmeD (Tabla 4). Las condiciones de la reacción de PCR fueron las siguientes: desnaturalización inicial 5 min a 94°C; 30 ciclos de 94°C por un minuto, 45 segundos a 60°C y 72°C por 30 segundos, y una extensión final a 72°C durante 5 min. En caso de que las muestras presentaran contaminación con ADN, fueron tratadas nuevamente con el sistema TURBO DNase (Ambion) con el consiguiente protocolo de limpieza *Clean Up*.

3.9.2. Experimentos de análisis transcriptómico

Para los experimentos de análisis transcriptómico todas las cepas se cultivaron en las condiciones descritas previamente. Los cultivos se recogieron a una DO de 0,6 y la extracción de ARN se realizó como se ha descrito anteriormente. Los experimentos se hicieron por triplicado en días diferentes. La calidad y concentración del ARN se comprobó mediante Bioanalyzer en la Unidad de Genómica del Centro Nacional de Biotecnología (Madrid, España). Las 3 muestras independientes de ARN se agruparon para realizar el análisis transcriptómico. La secuenciación masiva del ARN por el sistema de Illumina se realizó en el Parque Científico de Madrid. La secuenciación masiva incluye un tratamiento para la eliminación de ARNr y la síntesis de ADNc a partir del ARN. Las lecturas utilizadas fueron de 75 pb.

3.9.3. RT-PCR en Tiempo Real

Para la síntesis de ADNc se utilizaron 5 µg de ARN total. Esta síntesis fue realizada con el sistema *High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit* (Applied Biosystems). La reacción de PCR en tiempo real se llevó a cabo en un equipo ABI PRISM

7300 utilizando el sistema *Power SYBR Green PCR Master Mix* (Applied Biosystems). En la reacción los cebadores se utilizaron a una concentración entre 200 y 800 nM (Tabla 5) y se agregaron 50 ng de ADNc en 5 μ l por cada reacción. El ensayo se hizo con triplicados biológicos y duplicados técnicos y los genes *rpoD* y *ftsZ* fueron usados como controles para normalizar los resultados de expresión. La expresión relativa de cada uno de los genes se calculó siguiendo el método $2^{-\Delta\Delta C_t}$ (Livak y Schmittgen, 2001; Pfaffl, 2001). Los cebadores utilizados en los experimentos de RT-PCR en tiempo real se muestran en la Tabla 5.

3.10. Técnicas de proteínas

3.10.1. Extracción de proteínas de membrana totales y de membrana externa

La obtención de extractos de proteínas de membranas totales y de membrana externa a partir de cultivos se realizó según Fukuoka *y col.* (1991). Cincuenta ml de cultivos crecidos en fase exponencial (DO 0,6) se centrifugaron a 6000 x *g* durante 20 min. El sedimento celular se lavó y resuspendió con 10 ml de tampón HEPES (Sigma) 20 mM a pH 8 (10 min 6000 x *g*) y fue sometido a ultrasonido en 3 ciclos de 1 min (frecuencia constante, 0,45 Hz de potencia). Para eliminar los restos celulares las muestras se centrifugaron a 6000 x *g* durante 20 min. Para separar las membranas el sobrenadante se resuspendió en 1,5 ml de tampón HEPES 20 mM a pH 8 y se ultracentrifugó a 100000 x *g* durante 1 h. El precipitado celular se lavó con 1,5 ml de tampón HEPES 20 mM a pH 8 (30 min 100000 x *g*). Las proteínas de membrana totales fueron resuspendidas en 60 μ l de tampón HEPES 20 mM a pH 8. Para la obtención de las proteínas de membrana externas, las membranas internas se solubilizaron agregando Tritón X-100 al 1%, se mezcló bien y se dejó 30 min a 30°C. Las membranas externas se separaron ultracentrifugando la mezcla a 100000 x *g* durante 30 min. El precipitado se lavó con 1,5 ml de tampón HEPES 20 mM a pH 8 (30 min 100000 x *g*) y finalmente se resuspendieron las membranas externas en 60 μ l de HEPES 20 mM a pH 8.

Tabla 5. Cebadores empleados para RT-PCR en tiempo real.

Nombre	Secuencia	Concentración para PCR en tiempo real (nM) ^a
dnaK 1	GCGTCATCGAGTACCTGGTT	400
dnaK 2	CAGGTTCACCTCGGTCTGCT	400
emrA 1	ATGAGCCAGACCCAAGACAC	200
emrA 2	GGCCGAACATGAAGTACCAC	200
emrB 1	AGCACATCTCGGCCTATCAG	200
emrB 2	GATGTCGTTGAAGCCCATCT	200
groEL 1	AAGAAGGTGCAGGTCTCCAA	200
groEL 2	TCGTAATCCGAGGAGGTGTC	200
groES 1	CCAAGGAAAAGTCCACCAAG	200
groES 2	CGTACTGGCCGTAGATGACC	200
grpE 1	CAAGTTCGCCAACGAGAAG	200
grpE 2	TGCTTGTAGGTCAGCTCCAG	200
hslU 1	AGACCGACCACATCCTGTTC	600
hslU 2	CACGAAATCGTTCTTGCTCA	800
htpG 1	CATCACCATCGAAGACAACG	600
htpG 2	AGCTGCGAATCCTTCTTCTG	800
smeZ 1	GCGGTGATGTACCTGTTCT	200
smeZ 2	GTCAGCACGTTGATCGAGAA	200
clpB 3	ACTTCAAGCTGGTGCAGGAC	400
clpB 4	GTTGTGCAGCACTTCTTCCA	400
dnaJ 3	AAGCCTACGAAGTGCTGTCC	400
dnaJ 4	CCAAAAATGTTGCCGAAGAT	400
tolA 3	AACGTGCTCAACCAGATCG	600
tolA 4	CTGATCGCTGCGTACTTGTG	800
hslV 3	GGTGGCTCGTATGCACTGTC	600
hslV 4	ACGTTGCGGTTGGTGTAGAT	800
smeU2 3	TCAAGATTCCCGCCTACAAC	600
smeU2 4	GTCTTCACGTAACCCGGATG	800
rnasaG 1	GAGGACATCGCCTACCTGTC	200
rnasaG 2	ACCTTCACCTGTCCACGTC	200
ftsZ1 ^b	ATGCAGGTGGCGCTGAA	200
ftsZ2 ^b	GCTTCTCGTTCGGGATGGT	200
rpoD1 ^c	GGTGCACATGATCGAAACGA	500
rpoD2 ^c	GCCGTA CTGCTGGAGCATCT	500

^a: Las concentraciones de los cebadores fueron establecidas realizando matrices de combinaciones de concentraciones de las parejas de cebadores y luego fueron chequeadas mediante una curva de calibración con ADNg de *S. maltophilia* D457.

^b: Garcia-Leon y col. (2014)

^c: Sanchez y Martinez (2010)

3.10.2. Electroforesis de proteínas

La concentración de proteínas fue calculada con el reactivo de Bradford (Biorad) según las especificaciones del fabricante.

Las muestras de proteínas se resuspendieron en tampón de carga (12 mM Tris-HCl pH 6.2; 5% glicerol; 0,4% SDS; 0,02% azul de bromofenol), se hirvieron a 95°C durante 5 min, se centrifugaron a 6000 x *g* durante 5 min, se cargaron y se corrieron en geles de poliacrilamida 12% (p/v) conteniendo 0,1% de dodecil sulfato de sodio (SDS-PAGE) a temperatura ambiente y a 120 V por gel (Laemmli y col., 1970). Como tampón de electroforesis se utilizó Tris-glicina-SDS (25 mM Tris base, 192 mM glicina, 0.1% p/v SDS). Una vez finalizada la separación electroforética, las proteínas presentes en el gel fueron teñidas con Coomassie Brilliant Blue (2% p/v Coomassie Brilliant Blue R-250, 40% v/v metanol y 7% v/v ácido acético).

3.11. Manipulaciones genéticas

3.11.1. Introducción de plásmidos

Para transformar las cepas de *E. coli* se siguió el protocolo de CaCl₂ ya establecido (Sambrook y Russell, 2001).

La introducción de los plásmidos en las cepas de *S. maltophilia* se realizó mediante triple conjugación (de Lorenzo y Timmis, 1994) usando la relación 4:1:2 de las cepas receptor: donante: auxiliar (*S. maltophilia*: *E. coli* CC118λ con el plásmido a transferir: *E. coli* 1047/pRK2013). Las cepas se crecieron ON en LB (*E. coli* CC118 con el plásmido a transferir con 50 mg/ml de kanamicina y *E. coli* 1047/pRK2013 con 25 mg/ml de kanamicina). Se centrifugaron a 5900 x *g* durante 2 min 800 µl de cada cultivo (receptor: donante: auxiliar). Los sedimentos celulares se resuspendieron en 800 µl de LB. Se agregaron 200 µl del donante a 800 µl del receptor y 400 µl del auxiliar. Se mezcló por inversión y la mezcla se filtró a través de un filtro Millipore de 45 µm. Luego el filtro se puso hacia arriba en una placa de LB agar sellada con parafilm y se incubó durante 7-8 horas a 37°C. El filtro se recuperó en 5 ml de medio M9 (Atlas, 1993) y se agitó fuertemente. Se plaquearon diluciones 10⁻¹ y 10⁻² en placas de LB agar con imipenem 20 µg/ml (para eliminar la cepa donadora y la auxiliar) y kanamicina 300 µg/ml (para seleccionar a *S. maltophilia* con el plásmido).

3.11.2. Complementación de los mutantes con los genes *rnG*, SMD_2116 (AAA-ATPasa) y SMD_0049 (Proteína asociada a pared)

Los genes silvestres se obtuvieron mediante amplificación por PCR a partir de ADN_g de *S. maltophilia* utilizando el sistema *Expand Long Template PCR* (Roche). Una vez obtenidos los productos se clonaron en el vector pGEMT-Easy (Promega) y fueron secuenciados para comprobar que la secuencia estuviese correcta. Los fragmentos de ADN se recuperaron mediante la digestión con las enzimas de restricción *EcoRI* y *HindIII* (para *rnG* y SMD_0049) y con *BamHI* y *HindIII* (para SMD_2116) y se ligaron por separado en el plásmido pVLT33 (*rnG*) o pSEVA234 (SMD_0049 y SMD_2116), dando origen respectivamente a los plásmidos pAB01, pAB02 y pAB03. Los genes clonados en estos plásmidos se encuentran bajo control del promotor *lac* y son inducibles por IPTG.

Células competentes de la cepa de *E. coli* DH5 α o TG1 fueron transformadas con los plásmidos pAB01, pAB02 y pAB03 y seleccionadas en medio LB que contenía 50 μ g/ml de kanamicina. Posteriormente, cada plásmido se purificó para transformar células CC118 λ pir, que fueron usadas en la conjugación de las diferentes cepas de *S. maltophilia*. Las colonias se seleccionaron en medio LB que contenía 300 μ g/ml de kanamicina.

La cepa silvestre de *S. maltophilia* D457 y las cepas mutantes FSV46, G3.F1.5 y G1.G8.35 se transformaron con las construcciones y con el plásmido sin inserto. En el receptor la presencia del plásmido pSEVA234 se confirmó con el par de cebadores 227/273. La presencia del plásmido pSEVA234 conteniendo el gen de interés se confirmó mediante amplificación con un cebador del inserto (ATPasaBam o Wall F) y un cebador del plásmido (273). La presencia del plásmido pVLT33 se confirmó mediante aislamiento de ADN plasmídico y digestión en sitios de restricción conocidos. Y la presencia del gen de la RNasa G clonado en pVLT33 se confirmó con el par de cebadores RNasaF/R. Los cebadores mencionados se encuentran en la Tabla 4. Los nombres de las cepas resultantes se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6. Cepas de *S. maltophilia* transformadas con plásmidos

Cepa	Cepa huésped	Plásmido introducido
AB001	D457	pVLT33
AB002	D457	pVLT33-RNasaG (pAB001)
AB003	FSV46	pVLT33
AB004	FSV46	pVLT33-RNasaG (pAB001)
AB005	D457	pSEVA234
AB006	D457	pSEVA234-AAA-ATPasa (pAB002)
AB007	G3.F1.5	pSEVA234
AB008	G3.F1.5	pSEVA234-AAA-ATPasa (pAB002)
AB009	D457	pSEVA234-WallAP (pAB003)
AB010	G1.G8.35	pSEVA234
AB011	G1.G8.35	pSEVA234-WallAP (pAB003)

3.12. Herramientas bioinformáticas

Para alinear las secuencias obtenidas de la secuenciación de fragmentos producto de las PCR inversas o clonados en pGEMT-Easy se utilizó el programa SeqMan del paquete LaserGene 8 (DNASTAR Inc, Madison, WI, USA). Para armar los mapas de las secuencias y los plásmidos se utilizó el programa SeqBuilder del mismo paquete. Para identificar las secuencias interrumpidas por el transposón se utilizó el programa en línea BLASTn (Altschul y *col.*, 1997) que alinea las secuencias con las bases de datos de secuencias anotadas. Para comparar las secuencias de los genes de la Rnasa G en *S. maltophilia* y *P. aeruginosa* se utilizó el programa en línea de múltiples alineamientos ClustalW 2.0 (Larkin y *col.*, 2007).

Para realizar la comparación de los fenotipos de los mutantes, de los transcriptomas y los tiempos de vida media y realizar *clusters* con estos datos se utilizó el programa Cluster 3.0 del Eisen Lab (Eisen y *col.*, 1998) y para visualizar el *cluster* se utilizó el programa Java TreeView. Cluster 3.0 y Java TreeView constituyen un par integrado de programas; el Cluster 3.0 funciona agrupando jerárquicamente una gran cantidad de datos y el programa Java TreeView muestra los resultados gráficamente y en escala de colores (Eisen Lab).

Para analizar los resultados de la secuenciación masiva de los ADNc se utilizaron los programas Fiesta (Oliveros, 2007) Rockhopper (McClure y *col.*, 2013) e Integrative Genomics Viewer (IGV) (Broad Institute; (Thorvaldsdottir y *col.*, 2013)). El análisis comparativo de la expresión génica entre el mutante FSV46 y la cepa silvestre D457 se realizó con el programa Fiesta. Para cada cepa el programa calcula el logaritmo del

RPKM (Lecturas por kb por millón de lecturas mapeadas) (Mortazavi y *col.*, 2008) de cada gen, la media del logaritmo del RPKM y la relación del RPKM entre las dos cepas. Como criterio de expresión diferencial seleccionamos los genes con una relación de RPKM mayor a 1 y menor a -1. El análisis comparativo de la expresión génica entre el mutante G3.F1.5 y la cepa silvestre D457 se realizó con el programa Rockhopper. Este programa calcula el RPKM de cada gen como la cantidad de lecturas dividido por la longitud del gen y normalizado por el cuartil superior de la expresión génica que es un normalizador más robusto que la cantidad de lecturas totales. El IGV es una herramienta de visualización para explorar la expresión de los genes a lo largo de la secuencia genómica.

RESULTADOS

4. Resultados

4.1. Búsqueda de mutantes resistentes a antibióticos en *S. maltophilia*

S. maltophilia es un microorganismo que presenta una baja sensibilidad a muchos agentes antimicrobianos (Sanchez y col., 2009). A pesar de esta situación, los mecanismos de resistencia no se conocen por completo. Con el objetivo de caracterizar nuevos mecanismos de resistencia a antibióticos en este patógeno oportunista realizamos un análisis de 4 genotecas de inserción obtenidas con el transposón MiniTn5 Tc (de Lorenzo y col., 1990) de *S. maltophilia* D457 para identificar genes que estén involucrados en dicha resistencia. Cada una de las genotecas contenía entre 1600 y 2200 mutantes. Para hacer el análisis se utilizaron los siguientes antibióticos: sulfametoxazol, trimetoprim, gentamicina, polimixina y fosfomicina. En primer lugar se determinó la CMI de estos antibióticos para la cepa silvestre *S. maltophilia* D457 mediante doble dilución en líquido y mediante E-test. Los resultados de dicho análisis se muestran en la Tabla 7.

Tabla 7. CMIs de diferentes antibióticos de la cepa D457.

Antibiótico	CMI (µg/ml)	
	E-test	Microdilución
Polimixina	512	32-128
Fosfomicina	256-384	256-512
Trimetoprim	>32	64
Sulfametoxazol	16	8
Gentamicina	64	64

Para realizar el análisis de las genotecas probamos en placa 4 concentraciones para cada antibiótico (CMI, 2xCMI, 4xCMI y 8xCMI) usando como referencia los valores de CMI obtenidos con las tiras de E-test (Tabla 7). La menor concentración de cada antibiótico donde no crecían colonias de *S. maltophilia* D457 y el doble de dichas concentraciones fueron las utilizadas para realizar la búsqueda de mutantes resistentes en las genotecas, con excepción de gentamicina, para la cual se utilizaron las concentraciones 80 y 100 µg/ml (en la genoteca 3 se intentó aislar mutantes también usando 160 µg/ml de gentamicina). Las concentraciones utilizadas se muestran en la Tabla 8.

Tabla 8. Concentraciones de antibióticos utilizadas para realizar el escrutinio de las genotecas.

Antibiótico	Concentraciones (µg/ml)	
Polimixina	1024	2048
Fosfomicina	512	1024
Trimetoprim	256	512
Sulfametoxazol	128	256
Gentamicina	80	100

Debido a que cada genoteca contiene un número máximo de 2200 mutantes, para asegurarnos de analizar todos los posibles mutantes de cada genoteca se sembraron 10000 UFC en cada placa con las concentraciones de antibiótico previamente establecidas (Tabla 8). Cada siembra se realizó por duplicado. Se contaron las colonias que crecieron para conocer la cantidad de mutantes obtenidos en el primer análisis y se volvieron a sembrar 75 mutantes resistentes de cada antibiótico y cada concentración en 3 placas: una placa con el mismo antibiótico, a la misma concentración usada en la selección, para comprobar que la mutación sea estable, una placa con 20 µg/µl de tetraciclina para comprobar que el mutante portaba el transposón y otra placa como control de viabilidad (sólo LB). En la Tabla 9 se muestra la cantidad de mutantes que se recuperaron de los 75 replicados del primer análisis, que contienen el transposón y crecen a la concentración de antibiótico indicada. No se obtuvieron mutantes resistentes a sulfametoxazol y sólo en 2 de las genotecas se obtuvieron mutantes resistentes a trimetoprim.

Tabla 9. Número de mutantes que crecen a la concentración de antibiótico indicada y en 20 µg/µl de tetraciclina en cada genoteca.

Genoteca	Antibiótico								
	FOS ^a		POL		GEN			TRI	
	512 ^b	1024	1024	2048	80	100	160	256	512
1	30 ^c	13	14	0	28	12	ND	0	0
2	65	59	14	13	24	0	ND	0	0
3	72	72	0	5	39	36	8	55	25
4	75	75	75	58	20	43	ND	47	0

^aFOS: fosfomicina; POL: polimixina; GEN: gentamicina; TRI: trimetoprim.

^bLos valores de concentraciones están expresados en µg/µl.

^cLos números corresponden a UFC que crecen en las 3 placas

De los mutantes que crecieron en las 3 placas seleccionamos hasta un máximo de 10 de cada antibiótico a cada concentración para seguir trabajando. A continuación analizamos el fenotipo de los mutantes seleccionados respecto a su sensibilidad a antibióticos de diferentes familias: gentamicina, tobramicina, levofloxacin, norfloxacin, eritromicina, latamoxef, ceftazidima, cloranfenicol, tigeciclina, cotrimoxazol y colistina. La caracterización fenotípica de los mutantes se realizó mediante discos de antibióticos y se midió el halo de inhibición (Tabla 14 en anexo).

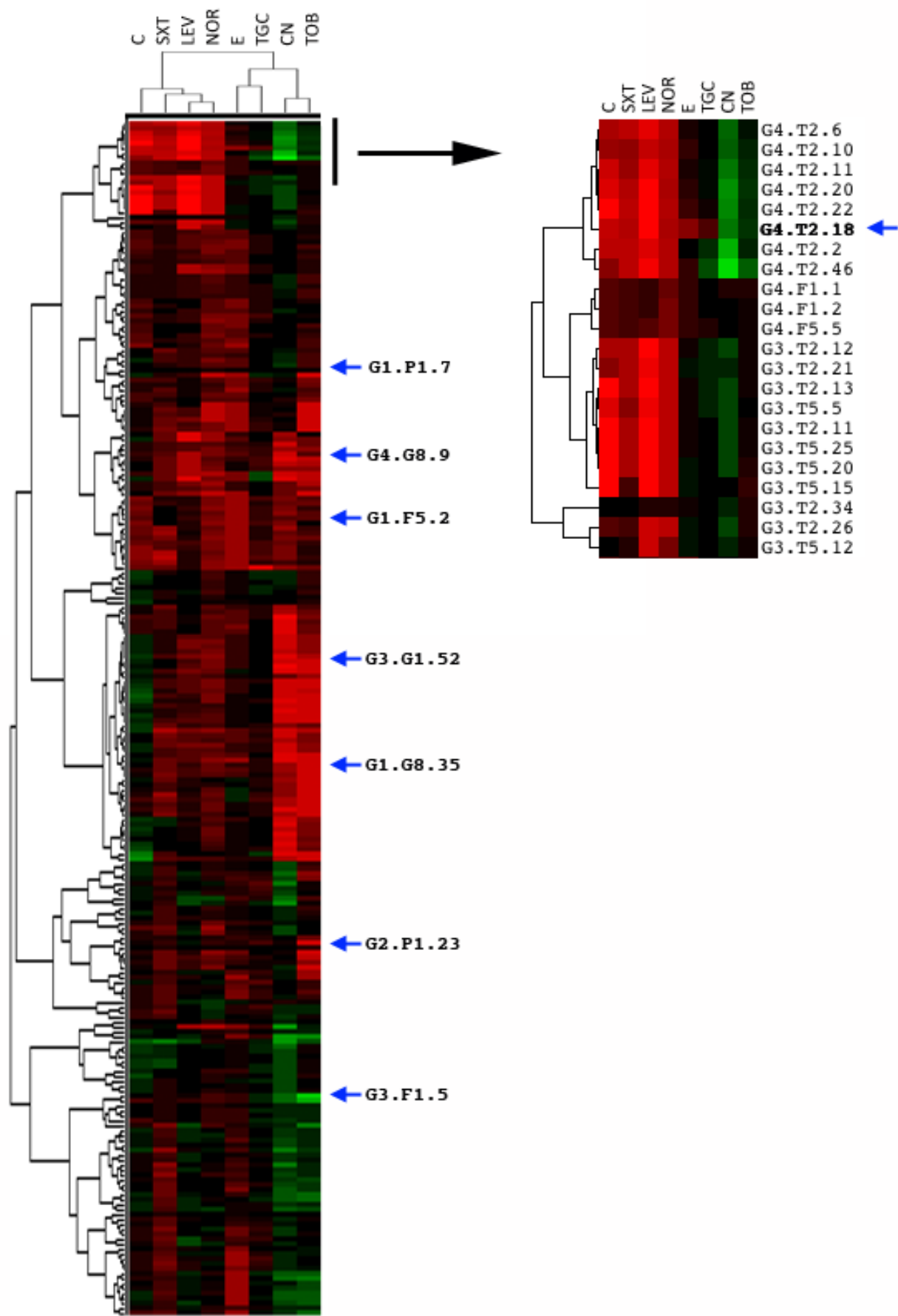
En la Tabla 14 se señalan en verde los halos más de 0.3 cm menores al halo de la cepa silvestre para ese antibiótico y en amarillo los halos más de 0.3 cm mayores al halo de la cepa silvestre para ese antibiótico. Analizando la tabla podemos observar varias características generales de los resultados del escrutinio. En primer lugar se observa que el fenotipo de menor sensibilidad es más frecuente que el de mayor sensibilidad, siendo esto esperable, ya que los mutantes fueron aislados por crecer a una concentración de antibiótico inhibitoria para la cepa silvestre. De hecho no encontramos mutantes que sean sensibles a las quinolonas utilizadas, norfloxacin y levofloxacin, ni a eritromicina. Muchos mutantes comparten el fenotipo de sensibilidad para los dos aminoglucósidos utilizados, gentamicina y tobramicina, sin embargo hay varios mutantes que presentan fenotipo para uno sólo de estos antibióticos. Lo mismo ocurre con las quinolonas norfloxacin y levofloxacin. Como es de esperar, la mayoría de los mutantes aislados en gentamicina, son resistentes a este antibiótico. Sorprendentemente la mayoría de los mutantes aislados en trimetoprim presentan mayor sensibilidad a gentamicina que la estirpe parental silvestre, y lo mismo ocurre en muchos casos con ceftazidima. Sólo en trimetoprim y en fosfomicina fue posible obtener mutantes que, además de ser resistentes a los antibióticos con los que se había hecho la selección, son resistentes a cloranfenicol.

Los mutantes se denominaron indicando la genoteca de la que provinieron (por ejemplo G2 significa Genoteca 2), con la inicial del antibiótico del que fueron aislados y su concentración (por ejemplo F5 significa Fosfomicina 512) y el número arbitrario de colonia (8 significa colonia número 8), en ese orden separados por un punto. En la Figura 4 se muestran los cambios en la sensibilidad a los antibióticos de los mutantes con respecto a la cepa silvestre en un análisis de *cluster*. El análisis de *cluster* de la Figura 4 se realizó utilizando como datos el logaritmo de la diferencia del diámetro del

halo de los discos entre cada mutante y la cepa silvestre para cada antibiótico (a partir de valores de la Tabla 14 del anexo). Para este análisis no se incluyeron los resultados con las cefalosporinas ceftazidima y latamoxef ya que los antibiogramas con estos antibióticos no estaban hechos para todos los mutantes. Los fenotipos se representan en una escala verde-rojo, indicándose en rojo los fenotipos correspondientes a una disminución de sensibilidad y en verde los fenotipos correspondientes a un aumento de sensibilidad, de esta manera la escala colorimétrica permite observar la variación fenotípica de la sensibilidad de cada mutante a un antibiótico respecto a la sensibilidad de la cepa silvestre *S. maltophilia* D457 al mismo antibiótico. Los mutantes con fenotipos similares se encuentran agrupados y la cercanía entre ellos es un indicador del grado de semejanza de dichos fenotipos. De hecho, algunos de estos mutantes podrían ser el mismo mutante. Como ejemplo, en la figura se muestra un *cluster* que contiene los mutantes aislados principalmente en trimetoprim y que presentan fenotipos similares para los antibióticos probados.

Figura 4 (página siguiente). Fenotipo de sensibilidad a 8 antibióticos diferentes de mutantes aislados de las genotecas de inserción de *S. maltophilia*.

Se realizaron antibiogramas mediante discos de antibióticos de mutantes aislados de genotecas de inserción de *S. maltophilia*. Se calculó el logaritmo de la diferencia del diámetro de los discos entre cada mutante y la cepa silvestre y los valores se utilizaron para realizar el cladograma. El análisis de los datos se realizó mediante el programa Cluster 3.0 y se visualizó mediante el programa Java TreeView. Los resultados se representan en una escala roja-verde, donde el rojo representa el halo de inhibición más pequeño (menor sensibilidad) y el verde el halo de inhibición más grande (mayor sensibilidad) respecto al silvestre. En las filas los mutantes más agrupados representan mayor semejanza fenotípica y el grado de correlación entre ellos se representa mediante la longitud de las ramas horizontales. Del mismo modo se representa en las columnas la correlación entre los antibióticos. Se señalan los mutantes identificados. Se amplía un grupo de mutantes aislados principalmente en trimetoprim que son poco sensibles a cloranfenicol, cotrimoxazol, levofloxacina y norfloxacina y sensibles a gentamicina.



Como hemos comentado existe una variedad de fenotipos en los mutantes analizados. Los mutantes que presentaron halos de inhibición más de 0.3 cm mayores o menores que los de la cepa silvestre se guardaron en gliceroles. A partir de los resultados de este análisis se seleccionaron para trabajar con ellos 12 mutantes de grupos diferentes en el árbol y que presentaban fenotipos de sensibilidad muy diferentes a los de la estirpe silvestre (estos mutantes se hallan señalados en negrita en la Tabla 14 del anexo). Para asegurar que los mutantes correspondan a la especie *S. maltophilia* y no ha habido una contaminación durante la selección, se utilizó un marcador genético conservado que diferencia *S. maltophilia* de otras especies bacterianas. Este marcador corresponde a una región intergénica del sistema SmeT-SmeDEF que está muy conservada en *S. maltophilia* (Ribbeck-Busch y col., 2005; Sanchez y col., 2004). Utilizando cebadores específicos de esta región (Sme27/Sme48) se comprobó mediante PCR que los mutantes eran *S. maltophilia*. Asimismo, utilizando cebadores específicos del transposón MiniTn5 Tc (Tet2R/3R) se comprobó que los mutantes tenían el transposón en su genoma. Luego se confirmó el fenotipo obtenido con los discos de antibióticos mediante tiras de E-test de los mismos antibióticos y los resultados confirmaron el patrón de sensibilidad obtenido mediante los discos de antibióticos.

4.1.1. Mapeo de mutantes resistentes a antibióticos en *S. maltophilia*

Para determinar la ubicación del transposón MiniTn5 Tc en los mutantes aislados de las genotecas de inserción se utilizó la técnica de PCR inversa. Para realizar esta técnica se aisló ADN_g de los mutantes. El ADN se digirió con enzimas de restricción que no cortan el transposón y que cortan un número veces en el genoma suficiente como para producir fragmentos con un tamaño promedio de 1000 pb. Para ello utilizamos el enzima de restricción *Pst*I. Los fragmentos se circularizaron ligando los extremos de los mismos. Con cebadores específicos de los extremos del transposón (Tn5 A2/3) se amplificaron las secuencias adyacentes al transposón. Las secuencias obtenidas se secuenciaron y se compararon con la base de datos del genoma de *S. maltophilia* D457 (Lira y col., 2012) mediante BLAST. De los 12 mutantes seleccionados previamente por su fenotipo se logró determinar el gen que está interrumpido por el transposón en 8 de los mismos (Figura 4 y Tabla 10).

El mutante G1.F5.2 contiene el transposón en una región intergénica, a 1800 pb del extremo 5' del gen de una proteína hipotética y a 2800 pb del extremo 3' del gen de una proteína empaquetadora de la cápside de un fago. Es difícil predecir el efecto que la inserción del transposón en esta región puede tener en la sensibilidad a antibióticos. Dos mutantes aislados en polimixina a 100 µg/ml (G1.P1.7 y G2.P1.23) contienen interrumpidos genes de ARNr 23S, tampoco es fácil predecir el efecto que puede tener la deficiencia de un ARNr en la resistencia a antibióticos. Otro mutante (G4.T2.18) contiene interrumpido el gen que codifica el regulador negativo de la bomba SmeDEF, SmeT. Esta proteína es un represor de la expresión de la bomba SmeDEF-SmeT (Hernandez y *col.*, 2011). La ausencia de SmeT conlleva a la activación constitutiva de esta bomba, haciendo al mutante más resistente a cloranfenicol, eritromicina, tetraciclina y quinolonas (Alonso y Martinez, 2001). Efectivamente G4.T2.18 es resistente a cloranfenicol, eritromicina, y las quinolonas levofloxacina y norfloxacina. Debido a que este mecanismo de resistencia ya ha sido descrito no hemos continuado el estudio de este mutante, sin embargo cabe destacar que la obtención de un mutante con el gen *smeT* interrumpido es un resultado esperable por lo que constituye una validación a nuestro análisis. Dos mutantes (G4.G8.9 y G3.G1.52) tienen interrumpido el gen de la proteína de reparación de emparejamientos erróneos de ADN MutS. Estos mutantes pueden deber su fenotipo de baja sensibilidad a antibióticos a mutaciones en otro/s genes, debido a que el microorganismo ha perdido su sistema de reparación de ADN y sea posiblemente una bacteria hipermutadora. Por eso tampoco continuamos con el estudio de estos mutantes. El mutante G3.F1.5 aislado en fosfomicina, resistente a las quinolonas norfloxacina y levofloxacina y sensible a los aminoglucósidos gentamicina y tobramicina, tiene mutado el gen de una AAA-ATPasa (SMD_2116). El mutante G1.G8.35, resistente a eritromicina, cotrimoxazol, a las quinolonas norfloxacina y levofloxacina y a los aminoglucósidos gentamicina y tobramicina, contiene mutado el gen de una proteína desconocida asociada a la pared bacteriana (Wall associated protein, SMD_0049). Estos últimos 2 mutantes se seleccionaron para seguir trabajando con ellos.

Tabla 10. Mutantes aislados mediante distintos antibióticos de las 4 genotecas de *S. maltophilia*, su fenotipo y el gen que se encuentra interrumpido por el transposón.

Mutantes	Genoteca	Aislado en ^a	Gen Interrumpido	Antibióticos										
				CN	TOB	NOR	LEV	E	MOX	CAZ	C	TGC	SXT	CT
G1.F5.2	1	F	Región intergénica	1,9 ^b	1,5	0,9	2,2	0,6	2,6	ND	2,3	2,5	ND	2,1
G1.G8.35	1	G	<i>Wall associated protein</i>	1,7	0,6	1,1	2,1	1	2,8	ND	2,8	2,6	1,2	2,1
G1.P1.7	1	P	<i>rRNA 23S</i>	2,7	1,4	1,3	2,4	0,6	2,6	ND	2,8	2,6	1,3	2
G2.P1.23	2	P	<i>rRNA 23S</i>	2,5	0,6	1,4	2,6	1,3	0,6	ND	2,9	2,4	1,5	2,1
G3.F1.5	3	F	<i>AAA ATPase</i>	3,2	3	1,3	2,4	1,2	ND	3,3	ND	3	1,6	2,3
G3.G1.52	3	G	<i>MutS</i>	1,4	0,6	1	2,2	1,4	ND	2,7	3,5	2,8	1,4	2,3
G4.G8.9	4	G	<i>MutS</i>	1,4	1,3	1	1,5	1	ND	2,8	2,7	2,5	1,3	0,6
G4.T2.18	4	T	<i>SmeT</i>	3,3	2,1	0,7	0,8	0,7	ND	3,7	1,8	2,3	0,7	0,7
D457				2,6	1,8	1,8	2,7	1,5	2,7	3,3	3	2,7	1,8	2

^a F: fosfomicina; G: gentamicina; P: polimixina; T: trimetoprim

^b El fenotipo corresponde a los halos de inhibición en cm obtenidos con discos de antibióticos.

ND: No determinado

En celeste se indica el fenotipo de la cepa silvestre. En verde se señalan los halos más de 0.3 cm menores que el halo de la cepa silvestre D457 (resistentes) y en amarillo los halos más de 0.3 cm mayores que el halo de la cepa silvestre (sensibles).

Además decidimos estudiar también un mutante resistente a varios antibióticos denominado FSV46 que se había aislado a partir de un análisis previo de las genotecas con ácido nalidíxico (Salgado-Villagrán, 2011). Comprobamos el fenotipo de este mutante mediante discos de antibióticos y obtuvimos que es resistente a colistina y a las quinolonas norfloxacin y levofloxacin y es sensible a cloranfenicol y a los aminoglucósidos gentamicina y tobramicina (Tabla 11). En la Figura 5 se muestran los halos producidos por las quinolonas levofloxacin y norfloxacin para las cepas silvestre y mutante FSV46.

Tabla 11. Sensibilidad a los antibióticos de FSV46.

Cepas	Antibiótico									
	CN	TOB	NOR	LEV	E	MOX	C	TGC	SXT	CT
D457	2,5*	1,9	1,7	2,7	1,4	2,8	3,1	2,8	1,9	2,2
FSV46	4,0	2,6	0,8	1,9	1,3	2,7	3,4	2,8	1,8	1,1

*El valor corresponde al tamaño en cm de los halos de inhibición obtenidos con discos de antibióticos.

En celeste se indica el fenotipo de la cepa silvestre. En verde se señalan los halos más de 0.3 cm menores que el halo de la cepa silvestre D457 (resistentes) y en amarillo los halos más de 0.3 cm mayores que el halo de la cepa silvestre (sensibles).

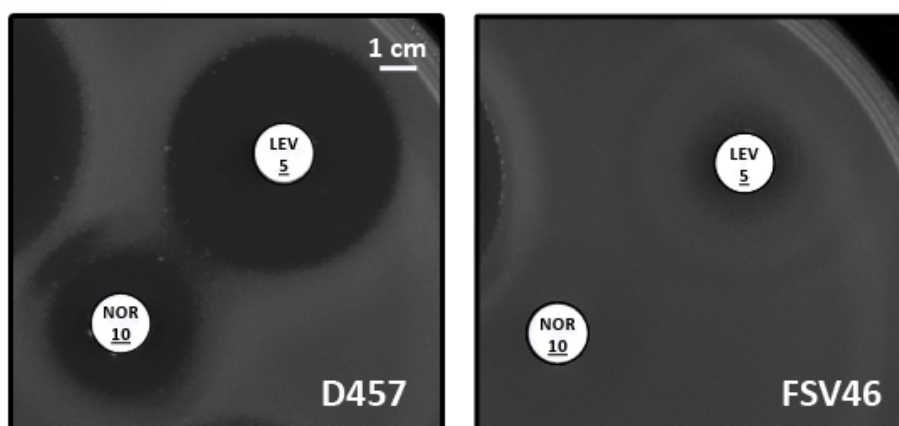


Figura 5. Halos de sensibilidad a quinolonas de la cepa silvestre D457 y la cepa mutante FSV46.

Cultivos de las cepas de *S. maltophilia* D457 y FSV46 se sembraron en placas y se pusieron discos de antibióticos de los antibióticos que figuran en la Tabla 11. En la figura se muestran los halos sin crecimiento para los discos de las quinolonas levofloxacina (LEV) y norfloxacina (NOR).

Para localizar el gen que estaba interrumpido por el transposón en este mutante se realizó la PCR inversa de la misma manera que en los otros mutantes y el producto resultante se secuenció. La secuenciación del producto de la PCR inversa y el análisis mediante BLAST reveló que el transposón en este mutante está insertado en el gen de la ribonucleasa G o RNasaG (*rnG*, SMD_3054).

Para confirmar la localización del transposón en los mutantes se diseñaron cebadores específicos de los extremos del gen de la RNasaG, la AAA-ATPasa y la proteína asociada a pared y se realizaron PCRs con ADNs de la estirpe silvestre y de cada una de las cepas mutantes. El tamaño de la banda, mayor en el mutante que en la estirpe parental silvestre (del tamaño del gen en la estirpe silvestre y del tamaño del gen más el tamaño del transposón en la cepa mutante), confirmó la inserción del transposón dentro de los genes codificantes de la RNasaG, la AAA-ATPasa y la proteína asociada a pared en las cepas mutantes (Figura 6 y Figura 7).

Luego de la confirmación de la inserción del transposón en los genes identificados en cada mutante continuamos trabajando con estos mutantes: FSV46 (mutante RNasaG), G3.F1.5 (mutante AAA-ATPasa) y G1.G8.35 (mutante proteína asociada a pared).

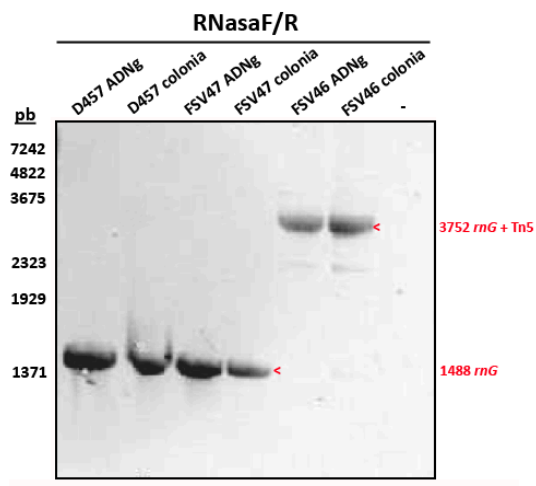


Figura 6. Comprobación mediante PCR de la inserción del transposón MiniTn5 Tc en el gen de la RNasa G.

Las PCRs se realizaron con cebadores específicos de los extremos del gen de la RNasa G (RNasaF/R) y con ADN molde de la cepa silvestre D457 y de los mutantes de inserción FSV46 y FSV47 (ADNg y de colonia). FSV47 es un mutante de la genoteca aislado en ácido nalidíxico previamente (Salgado-Villagrán, 2011) utilizado como control. En la cepa silvestre D457 y el mutante FSV47 se amplifica una banda del tamaño del gen *rnG* (1488 pb) y en el mutante FSV46 se amplifica una banda de tamaño del gen *rnG* más el tamaño del transposón (2264 pb).

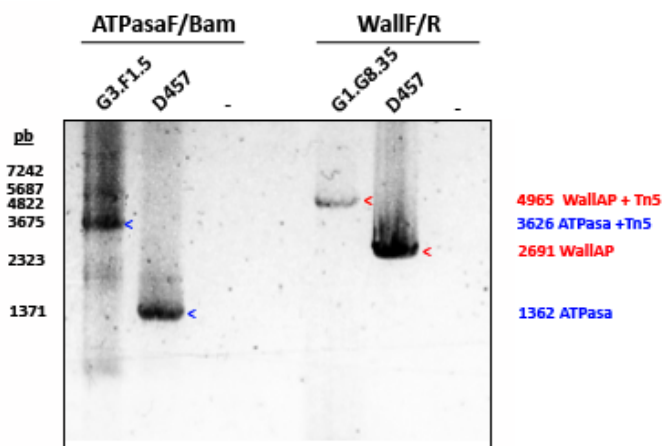


Figura 7. Comprobación mediante PCR de la inserción del transposón MiniTn5 Tc en los genes de AAA-ATPasa y Proteína asociada a pared.

Las PCRs se realizaron con cebadores específicos de los extremos de cada gen (ATPasaF/Bam para la AAA-ATPasa y WallF/R para la proteína asociada a pared) y con ADN molde (ADNg) de la cepa silvestre D457 y de cada uno de los mutantes de inserción G3.F1.5 y G1.G8.35. En la cepa silvestre D457 se amplifica una banda del tamaño del gen correspondiente (1362 pb gen de AAA-ATPasa y 2691 pb gen de Proteína asociada a pared) y en los mutantes se amplifica una banda de tamaño del gen correspondiente más el tamaño del transposón (2264 pb).

4.2. Complementación de mutantes en *S. maltophilia*

Para comprobar que la falta de los genes identificados en cada mutante es la causante del fenotipo de cambio en la sensibilidad a los antibióticos, se realizó un ensayo de complementación para verificar que el mutante, al recuperar el gen silvestre, recupera asimismo el fenotipo silvestre. Para ello, se amplificaron los genes a estudiar a partir de ADN_g de la cepa silvestre con cebadores específicos de estos genes que llevaban dianas para enzimas de restricción (Tabla 4), se purificaron los ADNs amplificados y se clonaron en pGEM-T. Para confirmar que no hay errores debidos a la reacción de amplificación en la secuencia de los genes clonados, una vez insertados en pGEM-T se enviaron a secuenciar con los cebadores universales M13F y M13R. Una vez confirmada la secuencia correcta de los genes clonados, éstos se escindieron de pGEM-T con las enzimas de restricción correspondientes a las dianas de los cebadores y se clonaron orientados en un vector de expresión con un promotor inducible por IPTG (pVLT33 o pSEVA234). Los mutantes fueron transformados con los vectores conteniendo el gen silvestre respectivo y se indujo con IPTG la expresión del gen clonado.

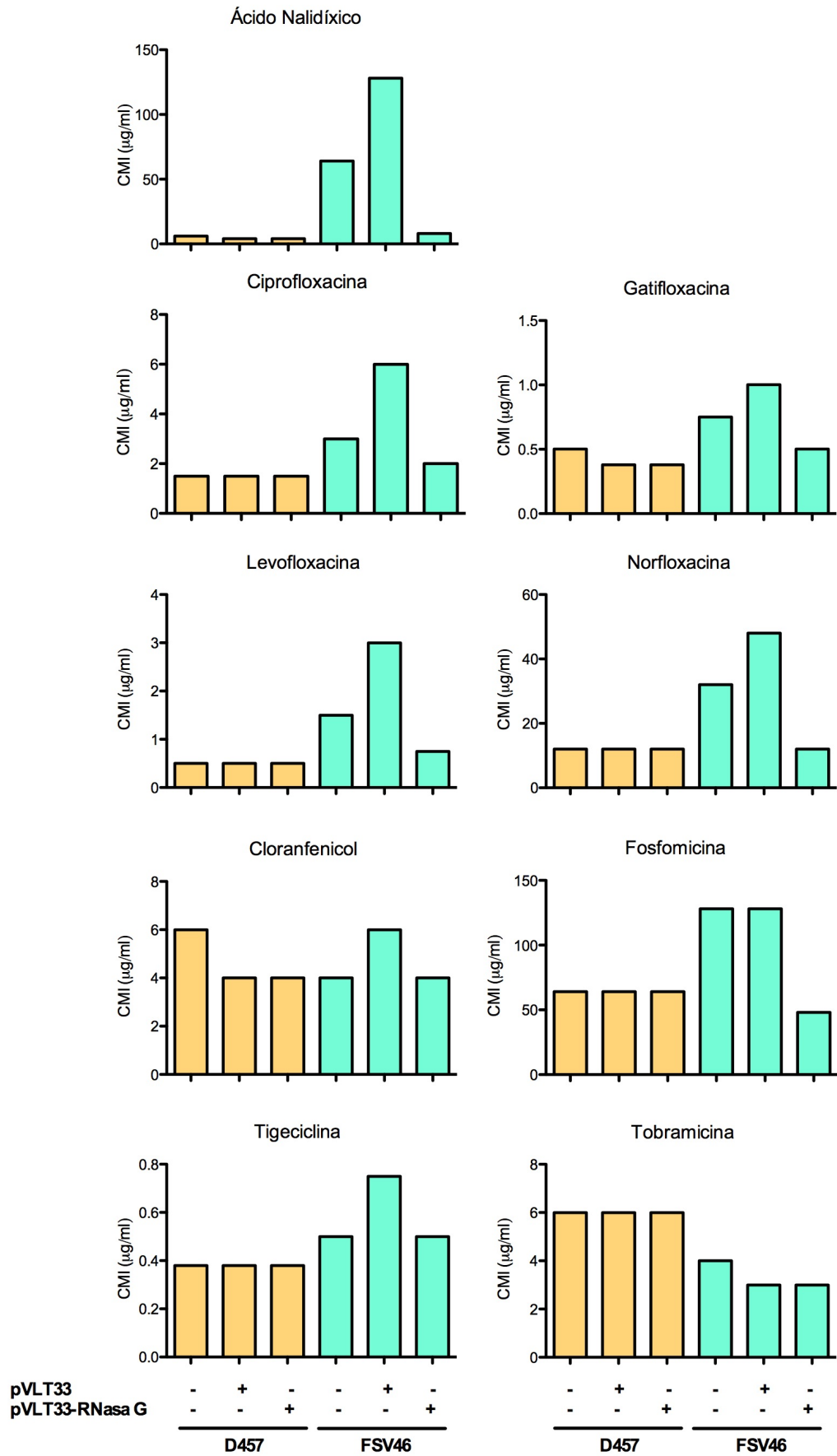


Figura 8 (página anterior). Ensayo de complementación del mutante FSV46.

Las cepas D457 y FSV46 se transformaron con pVLT33 o con pVLT33-RNasaG y se sometieron a antibiogramas con tiras de E-test de los siguientes antibióticos: ácido nalidíxico, ciprofloxacina, gatifloxacina, levofloxacina, norfloxacina, cloranfenicol, fosfomicina, tigeciclina y tobramicina. El ensayo se realizó por triplicado y se consideraron como CMI los valores más altos. El fenotipo se complementó para las quinolonas y fosfomicina.

4.2.1. FSV46: Mutante en la RNasa G

El gen de la RNasa G se clonó en el vector de expresión pVLT33, al plásmido resultante se le dio el nombre pBA01. La cepa silvestre D457 y la mutante FSV46 se transformaron con el plásmido pVLT33, las cepas resultantes se llamaron AB001 y AB003 respectivamente. Asimismo las cepas silvestre D457 y la mutante FSV46 se transformaron con pBA01, las cepas resultantes se llamaron AB002 y AB004 (Tabla 6). A partir de colonias aisladas de D457, AB001, AB002, FSV46, AB003 y AB004 se realizó un ensayo de complementación del fenotipo con discos de los siguientes antibióticos: gentamicina, tobramicina, norfloxacina, levofloxacina, eritromicina, ceftazidima, cloranfenicol, tigeciclina y cotrimoxazol. Observamos complementación total en levofloxacina, norfloxacina y cloranfenicol y parcial en gentamicina y tobramicina. En base a los resultados del ensayo de complementación con discos de antibióticos se verificó la complementación analizando la sensibilidad a antibióticos con tiras de E-test de los siguientes antibióticos: las quinolonas ácido nalidíxico, ciprofloxacina, gatifloxacina, levofloxacina y norfloxacina, cloranfenicol, fosfomicina, tigeciclina y tobramicina (Figura 8).

Como puede verse en la Figura 8 la expresión de la RNasa G complementó el fenotipo en el mutante FSV46 para fosfomicina y para todas las quinolonas analizadas: ácido nalidíxico, ciprofloxacina, gatifloxacina, levofloxacina y norfloxacina. El mutante presenta para estos antibióticos una menor sensibilidad y la cepa silvestre y el mutante complementado una mayor sensibilidad. Mediante este análisis, más sensible que el derivado del uso de discos de antibióticos, no pudimos obtener un fenotipo de complementación para cloranfenicol ni para tobramicina, antibióticos para los que este mutante era más sensible que la cepa silvestre (Tabla 11).

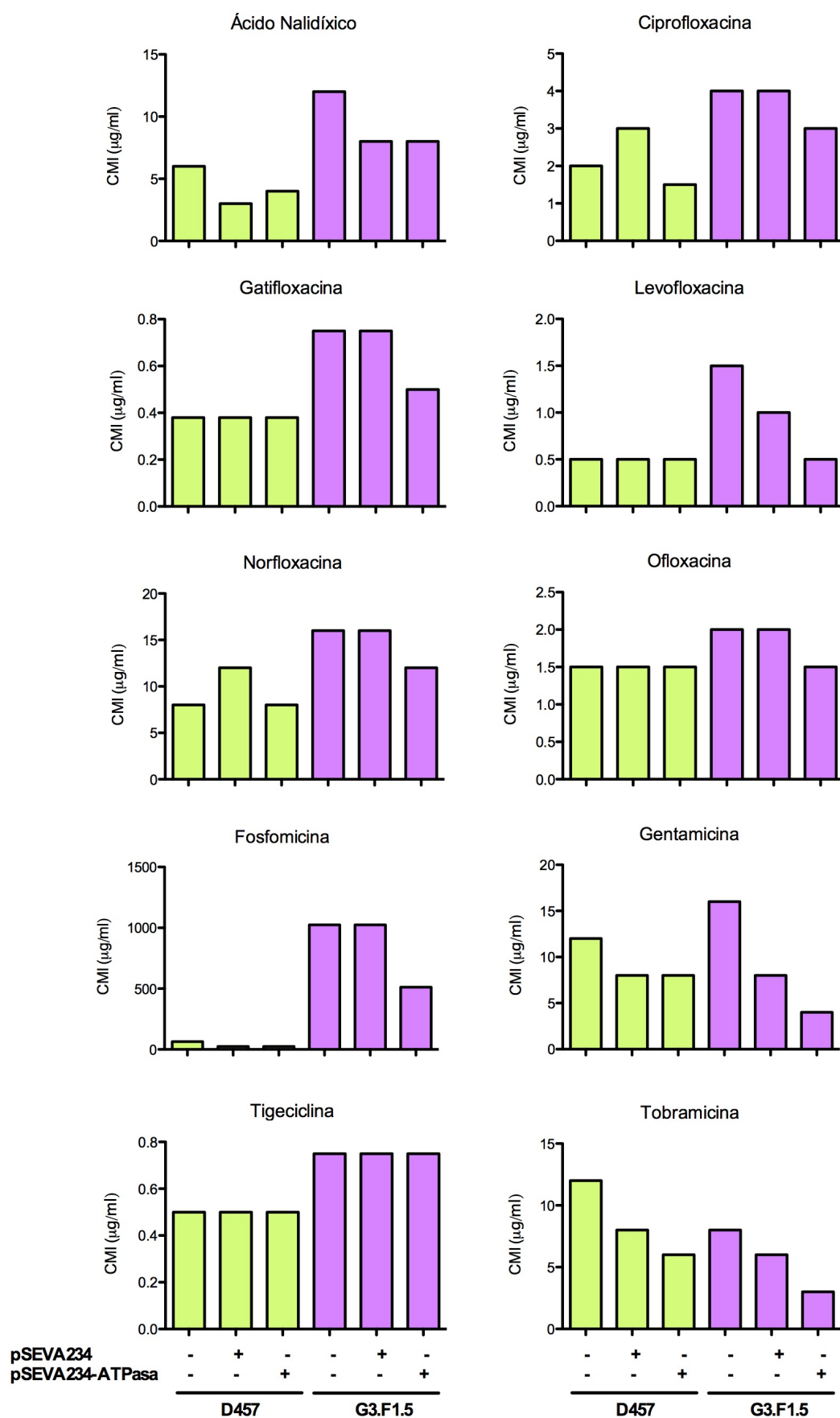
4.2.2. G3.F1.5: Mutante en la AAA-ATPasa

El gen de la AAA-ATPasa se clonó en el vector de expresión pSEVA234, al plásmido resultante se le dio el nombre pBA02. La cepa silvestre D457 y la mutante G3.F1.5 se transformaron con el plásmido pSEVA234, las cepas resultantes se llamaron AB005 y AB007 respectivamente. Asimismo las cepas silvestre D457 y la mutante G3.F1.5 se transformaron con pBA02, las cepas resultantes se llamaron AB006 y AB008 (Tabla 6). A partir de colonias aisladas de D457, AB005, AB006, G3.F1.5, AB007 y AB008 se realizó un ensayo de complementación con tiras de E-test de los siguientes antibióticos: las quinolonas ácido nalidíxico, ciprofloxacina, gatifloxacina, levofloxacina, norfloxacina y ofloxacina, fosfomicina, gentamicina, tigeciclina y tobramicina (Figura 9).

La expresión de la AAA-ATPasa complementó el fenotipo total o parcialmente en el mutante G3.F1.5 para fosfomicina y para todas las quinolonas utilizadas: ácido nalidíxico, ciprofloxacina, gatifloxacina, levofloxacina, norfloxacina y ofloxacina (Figura 9). Mediante este análisis, más sensible que el derivado del uso de discos de antibióticos, no pudimos validar el efecto de esta mutación en la sensibilidad a aminoglucósidos y por tanto, tampoco pudimos obtener un fenotipo de complementación.

Figura 9 (página siguiente). Ensayo de complementación del mutante G3.F1.5.

Las cepas D457 y G3.F1.5 se transformaron con pSEVA234 o con pSEVA234-AAA-ATPasa y se sometieron a antibiogramas con tiras de E-test para los siguientes antibióticos: ácido nalidíxico, ciprofloxacina, gatifloxacina, levofloxacina, norfloxacina y ofloxacina, fosfomicina, gentamicina, tigeciclina y tobramicina. El ensayo se realizó por triplicado y se consideraron como CMI los valores más altos. El fenotipo se complementó parcial o totalmente para las quinolonas y para fosfomicina.



4.2.3. G1.G8.35: Mutante en la Proteína asociada a pared

El gen de la Proteína asociada a pared se clonó en el vector de expresión pSEVA234 y al plásmido resultante se le dio el nombre pBA03. La cepa mutante G1.G8.35 se transformó con el plásmido pSEVA234, y se la llamó AB010. Asimismo las cepas silvestre D457 y la mutante G1.G8.35 se transformaron con pBA03, las cepas resultantes se llamaron AB009 y AB011. A partir de colonias aisladas de D457, AB005, AB009, G1.G8.35, AB010 y AB011 se realizó un ensayo de complementación con tiras de E-test de los siguientes antibióticos: las quinolonas ciprofloxacina, gatifloxacina, levofloxacina, norfloxacina y ofloxacina, gentamicina, tigeciclina y tobramicina (Figura 10).

La expresión de la proteína asociada a pared no produjo la complementación de los fenotipos de susceptibilidad de la cepa G1.G8.35; únicamente los fenotipos de sensibilidad para la tobramicina y la ciprofloxacina se complementaron parcialmente (Figura 10). Por este motivo, no continuamos con el estudio de dicho gen.

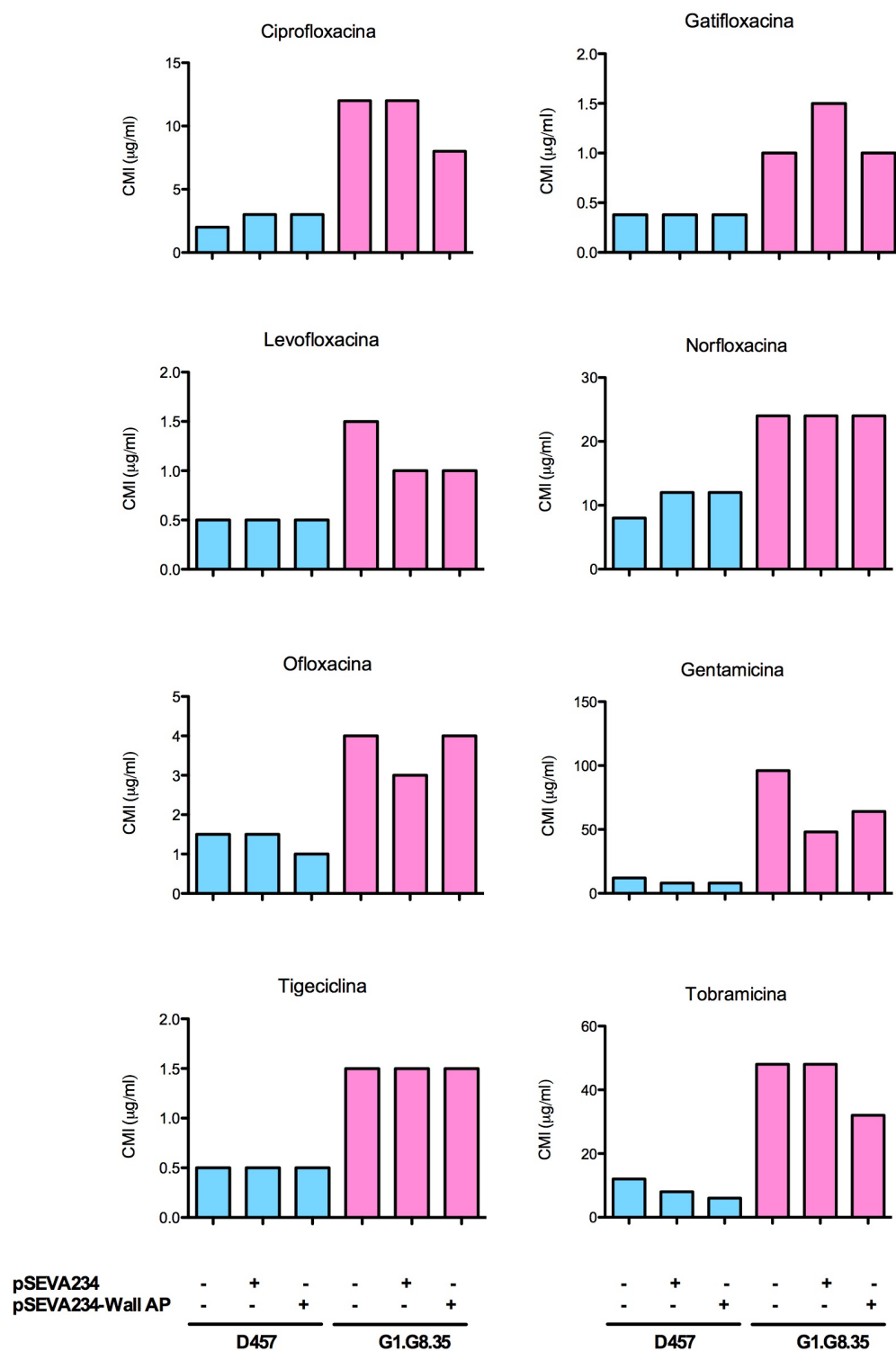


Figura 10. Ensayo de complementación del mutante G1.G8.35.

Las cepas D457 y G1.G8.35 se transformaron con pSEVA234 o con pSEVA234-WallAP y se sometieron a antibiogramas con tiras de E-test para los siguientes antibióticos: ciprofloxacin, gatifloxacin, levofloxacin, norfloxacin, ofloxacin, gentamicin, tigecyclin y tobramicin. El ensayo se realizó por triplicado y se consideraron como CMI los valores más grandes. No hubo complementación total para ningún antibiótico.

4.3. Estudio del mecanismo de resistencia relacionado con la RNasa G en *S. maltophilia*

El mutante FSV46 es resistente a quinolonas y fosfomicina y contiene interrumpido el gen que codifica la RNasa G. Esta enzima corta ARNs en segmentos ricos en ribonucleótidos AU (Tock y col., 2000). En *E. coli* degrada el ARNm de las enzimas alcohol deshidrogenasa y enolasa, y procesa el ARNr 16S (Kaga y col., 2002; Tock y col., 2000; Umitsuki y col., 2001). No se tiene información de su función en *S. maltophilia*. Mediante una serie de ensayos estudiamos el mecanismo de resistencia relacionado con esta RNasa en *S. maltophilia*.

4.3.1. Comparación de mutantes de la RNasa G de *S. maltophilia* y de *P. aeruginosa*

En primer lugar, nos planteamos si la falta de la RNasa G produce un fenotipo semejante en otras especies bacterianas, para ello estudiamos la falta de la RNasa G en *P. aeruginosa*. En principio analizamos mediante el programa ClustalW, la secuencia de nucleótidos y de aminoácidos de la RNasa G en *S. maltophilia* D457 y en *P. aeruginosa* PA14 (Figura 11). La identidad de ambas RNasas fue del 70% a nivel de nucleótidos y del 58% a nivel de proteína. En la Figura 11 se puede observar el alineamiento de las secuencias de aminoácidos de ambas proteínas. En muchas posiciones donde los aminoácidos no son iguales en ambas secuencias, suele encontrarse un aminoácido con propiedades estructurales o físico-químicas similares o que tienen una disposición espacial parecida. Por tanto, a pesar de que ambas secuencias no son iguales, muestran una elevada conservación de los residuos de aminoácidos.



Figura 11. Alineamiento de la secuencia de aminoácidos de los genes de la RNasa G de *S. maltophilia* D457 y de *P. aeruginosa* PA14.

El alineamiento de las secuencias de aminoácidos fue realizado con el programa ClustalW 2.0. En rojo aparecen los aminoácidos hidrofóbicos, en verde los hidrofílicos, en azul los polares con carga negativa y en rosa los polares con carga positiva. El asterisco indica que el aminoácido está conservado en ambas secuencias, los dos puntos designan residuos superpuestos con propiedades estructurales y físico-químicas similares, un punto indica que los residuos tienen un tamaño o una disposición espacial parecidos y un espacio significa que los aminoácidos no presentan propiedades comunes predominantes. Como puede verse, la similitud entre ambas proteínas es muy alta.

A continuación comparamos el fenotipo de FSV46 con el fenotipo de un mutante de inserción del gen de la RNasa G en *P. aeruginosa*. El mutante fue obtenido de una genoteca no redundante de mutantes de inserción de *P. aeruginosa* PA14 realizada con el transposón MAR2xT7 (Liberati y col., 2006). Para comparar el fenotipo realizamos antibiogramas con discos de antibióticos en ambos mutantes y ambas cepas silvestres (Tabla 12). Estos ensayos mostraron que el mutante de la RNasa G de

P. aeruginosa PA14 presenta un fenotipo de sensibilidad para todos los antibióticos utilizados semejante al fenotipo de la cepa silvestre PA14, es decir, que este mutante no es más sensible ni más resistente a ninguno de los antibióticos probados que la cepa silvestre (la resistencia a gentamicina se asocia al transposón con el que este mutante fue generado que tiene resistencia a gentamicina). Ésto indica que la mutación de la RNasa G no cambia el fenotipo de sensibilidad a los antibióticos en *P. aeruginosa*.

Dado este resultado, cabía la posibilidad de algún error en la localización del transposón en el mutante de *P. aeruginosa* PA14. Por este motivo diseñamos cebadores específicos de un fragmento del gen de la RNasa G de PA14 (cebadores PA RNasa1/2) y analizamos la inserción del transposón mediante PCR (Figura 12). Debido a que en el mutante obtuvimos una banda del tamaño del fragmento del gen más el tamaño del transposón y en la cepa silvestre obtuvimos una banda del tamaño del fragmento del gen, confirmamos la presencia del transposón en el gen de la RNasa G en este mutante de *P. aeruginosa* PA14.

Tabla 12. Efecto de la RNasa G en la sensibilidad a los antibióticos de *S. maltophilia* D457 y *P. aeruginosa* PA14.

Antibiótico	<i>S. maltophilia</i>		<i>P. aeruginosa</i>	
	D457	FSV46	PA14	Mutante RNasaG
Eritromicina	1,4	1,3	1,2	1,4
Gentamicina	2,5	4	4	1,6
Tigeciclina	2,8	2,8	1,1	1,3
Tobramicina	1,9	2,6	2,2	2,1
Cotrimoxazole	1,9	1,8	0,9	0,9
Levofloxacin	2,7	1,9	3,2	3,3
Latamoxef	2,8	2,7	1,1	1,2
Norfloxacin	1,7	0,8	3,5	3,6

*El valor corresponde al tamaño en cm de los halos de inhibición obtenidos con discos de antibióticos.

En verde se señalan los halos más de 0.3 cm menores que el halo de la cepa silvestre D457 (resistentes) y en amarillo los halos más de 0.3 cm mayores que el halo de la cepa silvestre (sensibles).

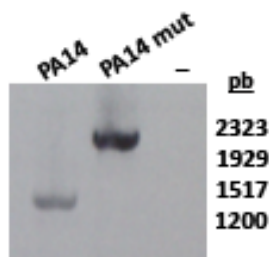


Figura 12. Comprobación mediante PCR de la inserción del transposón MAR2xT7 en el gen de la RNasa G en *P. aeruginosa*.

La PCR se realizó con cebadores específicos (PA RNasa1/2) de un fragmento del gen de la RNasa G de *P. aeruginosa* y con ADN molde de la cepa silvestre PA14 y el mutante de inserción de este gen. En la cepa silvestre PA14, se amplifica una banda del tamaño del fragmento del gen y en el mutante se amplifica una banda de tamaño del fragmento del gen más el tamaño del transposón.

Debido a que no se observan cambios en los fenotipos de sensibilidad a antibióticos en el mutante de la RNasa G de *P. aeruginosa* PA14 respecto a su parental silvestre, podemos concluir que la falta de la RNasa G no tiene un efecto general en la sensibilidad a los antibióticos de distintas especies bacterianas, sino es específica para *S. maltophilia*.

4.3.2. La RNasa G en el transcriptoma de *S. maltophilia*

Para estudiar la expresión de la RNasa G en el transcriptoma de *S. maltophilia* y para determinar los elementos regulados por esta proteína involucrados en la resistencia a quinolonas y fosfomicina del mutante defectivo en esta RNasa, analizamos los transcriptomas del mutante FSV46 y la cepa silvestre D457 mediante secuenciación de los ADNc obtenidos a partir del ARN de dichas cepas. En principio, para determinar qué fase de la curva de crecimiento de *S. maltophilia* era la más adecuada para realizar el análisis transcriptómico estudiamos la expresión de la RNasa G en la cepa silvestre a lo largo del crecimiento. Para ello, extrajimos ARN de cultivos de la cepa silvestre en distintas fases de crecimiento y analizamos mediante RT-PCR en tiempo real la expresión de la RNasa G (Figura 13). La expresión de la RNasa G no varía a lo largo de la curva de crecimiento, de manera que decidimos realizar el análisis transcriptómico en fase exponencial (DO 0,6).

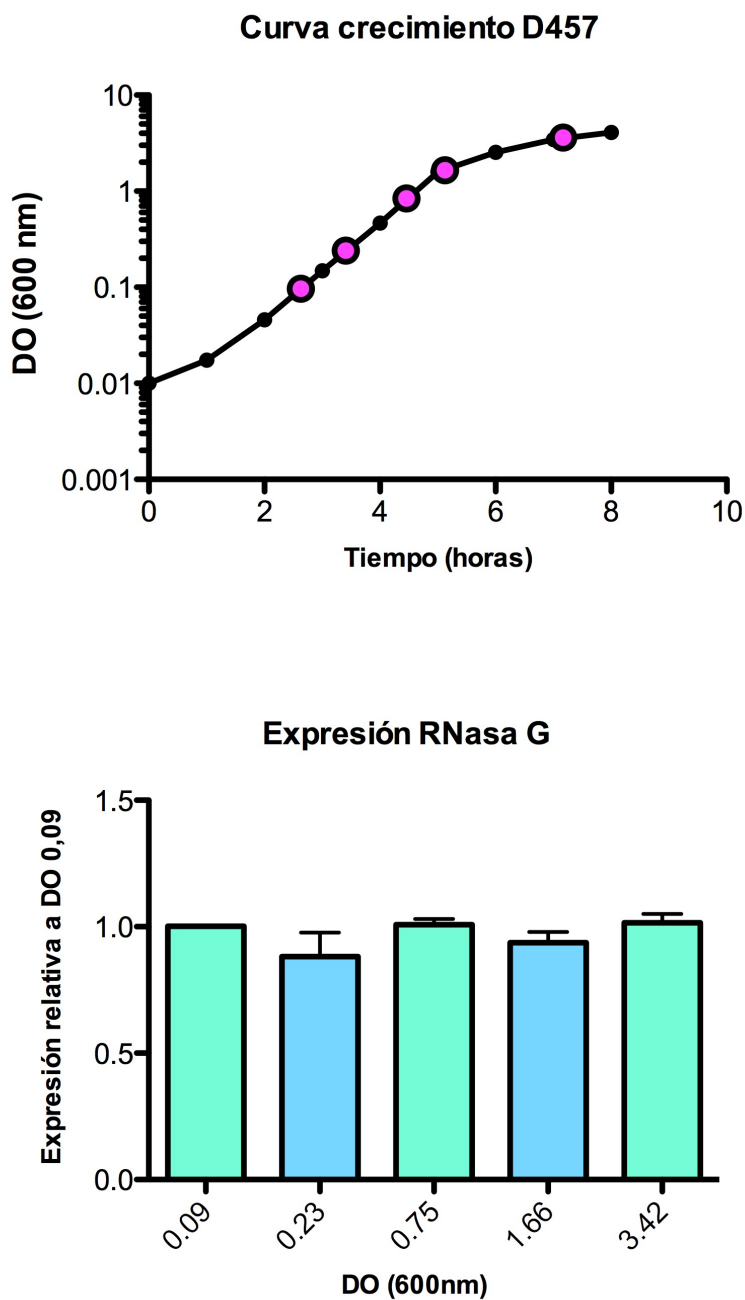


Figura 13. Expresión relativa de la RNasa G a lo largo de la curva de crecimiento de *S. maltophilia* D457.

La cepa D457 de *S. maltophilia* se creció a 37°C durante 8 horas. Se extrajo ARN de estos cultivos a las DO aproximadas que se indican con los círculos magenta y se analizó la expresión de la RNasa G mediante RT-PCR en tiempo real con cebadores específicos de este gen en *S. maltophilia*. Se consideró 1 la expresión del gen a DO 0,09. La expresión de la RNasa G no varía a lo largo de la curva de crecimiento de *S. maltophilia* D457.

A partir de los datos del transcriptoma de *S. maltophilia* D457 analizamos, en primer lugar, la expresión de la RNasa G en comparación con todos los demás genes expresados en estas condiciones de crecimiento (Figura 14). Podemos observar que la RNasa G tiene una expresión relevante. Al agrupar todos los genes del transcriptoma y ordenarlos por orden de expresión, la RNasa G se encuentra entre el 25% de los genes más expresados.

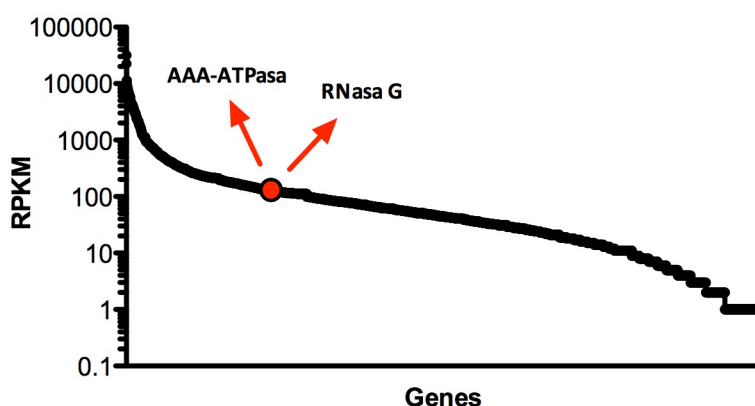


Figura 14. Expresión de la RNasa G en comparación a todo el transcriptoma.

La cepa D457 de *S. maltophilia* se creció hasta una DO de 0,6 y se extrajo el ARN. El ADNc obtenido a partir de ARN total de D457 se secuenció mediante secuenciación masiva. Se muestran los valores de expresión de todos los genes (RPKM) ordenados de mayor a menor expresión. Se marca el RPKM de la RNasa G (131) y el de la AAA-ATPasa (126). Ambos genes tienen una expresión considerable respecto a todo el transcriptoma.

A su vez analizamos la expresión de la RNasa G en comparación a las demás RNasas del transcriptoma de esta cepa (Figura 15). De las 12 RNasas presentes en el transcriptoma de esta cepa la RNasa G es la sexta RNasa más expresada.

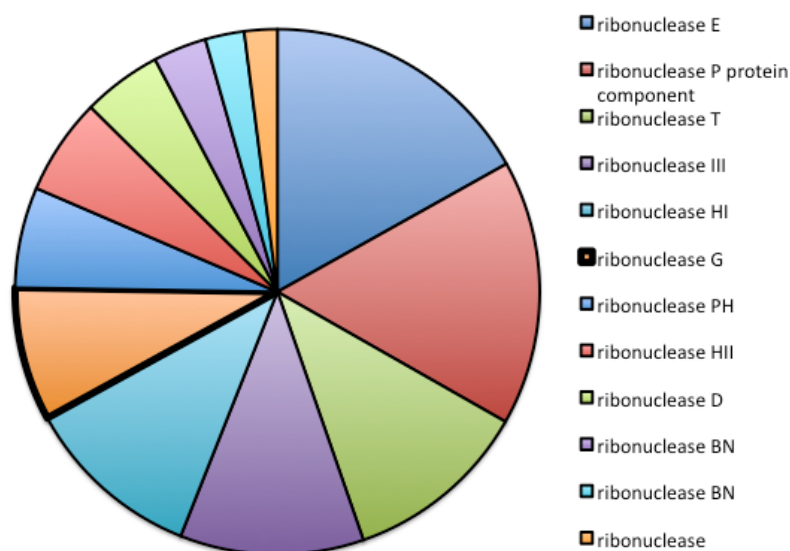


Figura 15. Expresión de la RNasa G en comparación a las demás RNasas expresadas.

La cepa D457 de *S. maltophilia* se creció hasta una DO de 0,6 y se extrajo el ARN. El ADNc obtenido a partir de ARN de D457 se secuenció mediante secuenciación masiva. Los valores de expresión de las ribonucleasas se expresaron como porcentajes siendo el 100% la suma de la expresión de todas las ribonucleasas. La RNasa G tiene una expresión considerable dentro de la familia de ribonucleasas.

4.3.3. Efecto de la inactivación de la RNasa G en la expresión génica de *S. maltophilia*

Luego de estudiar los niveles de expresión de la RNasa G en *S. maltophilia* D457, estudiamos el transcriptoma del mutante de inserción en la RNasa G (FSV46) y los cambios de expresión génica respecto a la cepa silvestre. Para comparar la expresión génica en el mutante y en la cepa silvestre utilizamos el programa Fiesta (Oliveros, 2007). Los resultados del análisis se muestran en la Tabla 15 del anexo. Para cada cepa se calculó el logaritmo en base 2 del RPKM (Lecturas por kb por millón de lecturas mapeadas) (Mortazavi y col., 2008) de cada gen, la media del logaritmo del RPKM y la relación del logaritmo del RPKM entre las dos cepas. Filtramos los genes dejando sólo aquellos con una relación de logaritmo del RPKM mayor a 1 (genes sobreexpresados más de 2 veces en el mutante) y menor a -1 (genes expresados en menor nivel, menos de la mitad en el mutante). Se pueden observar 77 genes sobreexpresados y 141 expresados en menor nivel en el mutante. Entre ellos se encuentran genes conocidos y genes sin caracterizar. Encontramos varios genes sobreexpresados que codifican proteínas chaperonas relacionados con el estrés térmico. Estos genes relacionados con la respuesta a estrés que estaban sobreexpresados en el mutante fueron: *clpB*, *dnaJ*,

dnaK, *groEL*, *groES*, *grpE*, *hslU*, *hslV* y *htpG* (señalados en rojo en la Tabla 15). GroEL-GroES son proteínas chaperonas de respuesta al calor que renaturalizan proteínas desnaturalizadas. DnaK, DnaJ, GrpE y ClpB son parte del sistema multi-chaperona inducido por estrés térmico e impiden la agregación de proteínas desplegadas. HtpG es otra chaperona de choque térmico (Lund, 2001; Thomas y Baneyx, 2000). HslU y HslV son proteasas de choque térmico (Groll y col., 2005). También se expresan a más alto nivel en el mutante que en la estirpe silvestre los genes codificantes de las proteínas que componen el sistema de expulsión de drogas EmrAB: *emrA* y *emrB* (señalados en rojo en la Tabla 15).

Por otro lado, se encontraron genes que estaban regulados negativamente en el mutante, como la proteína de transporte *tolA* y el componente de la bomba *SmeU1-V-W-U2-X*, *smeU2* y de la bomba *SmeYZ*, *smeZ* (señalados en verde en la Tabla 15). La sobreexpresión de la bomba *SmeVWX* produce un fenotipo de resistencia a cloranfenicol, quinolonas y tetraciclinas y sensibilidad a aminoglucósidos. El gen *smeU2* que compone el operón de la bomba *SmeVWX* codifica una deshidrogenasa/reductasa y no se ha determinado el papel de este gen en esta bomba (Chen y col., 2011). La bomba *SmeYZ* contribuye a la resistencia intrínseca de *S. maltophilia*, la sobreexpresión del gen *smeZ* conlleva a mayores CMI's para aminoglucósidos (Gould y col., 2013) y su disrupción a una hipersensibilidad a estos antibióticos (Crossman y col., 2008), lo cual es coincidente con que nuestro mutante presenta una mayor sensibilidad a gentamicina y tobramicina (Tabla 11), aunque este fenotipo no fue complementado en FSV46 con el gen silvestre de la RNasa G.

La Figura 16 muestra la nube de genes expresados en el mutante relativizados a su expresión en la cepa silvestre, representados en función de la expresión promedio de dichos genes en ambas cepas. Los genes sobreexpresados y expresados en menor nivel mencionados se señalaron en rojo y en verde respectivamente en esta Figura. Estos genes fueron los elegidos para estudiar como posibles elementos del mecanismo de resistencia en el que se encuentra involucrado la RNasa G.

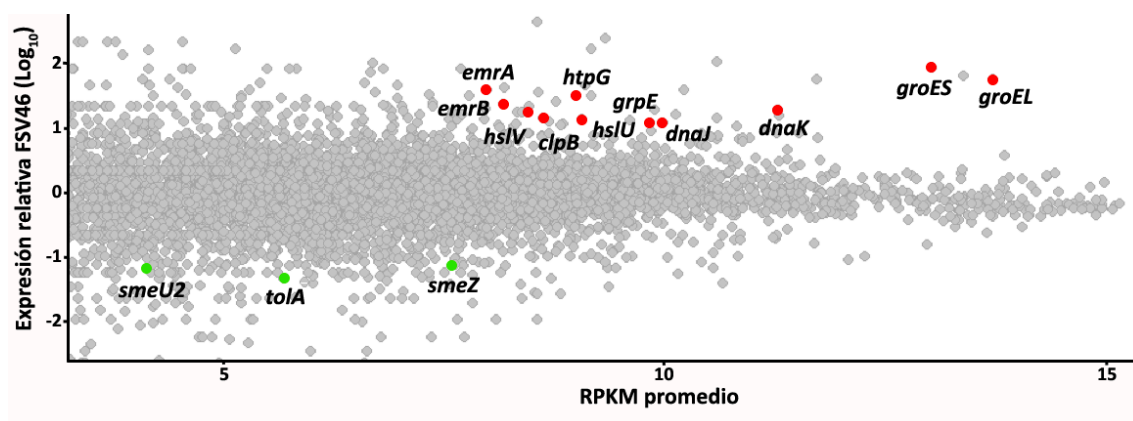


Figura 16 Análisis de expresión de genes del mutante FSV46 respecto a la expresión de los genes en la cepa silvestre D457.

Se analizó el transcriptoma del mutante FSV46 con el programa Fiesta. En el gráfico se representa la expresión de los genes en el mutante FSV46 respecto a la cepa silvestre D457 (\log_2 de la relación de los RPKM) en función de la expresión promedio en ambas cepas (\log_2 RPKM promedio). Estos valores se muestran en la Tabla 15 del anexo. En rojo se señalan los genes seleccionados cuya expresión en el mutante es por lo menos 2 veces mayor que en la cepa silvestre. En verde se señalan los genes seleccionados cuya expresión en el mutante es por lo menos la mitad que en la cepa silvestre.

Dado que las proteínas relacionadas con estrés térmico y los componentes de la bomba EmrAB podrían estar involucradas en el mecanismo de resistencia a quinolonas y a fosfomicina de la RNasa G, verificamos que los genes codificantes de estos elementos se encuentran expresados de modo diferencial en la cepa mutante respecto a la parental silvestre. La comprobación se realizó mediante RT-PCR en tiempo real con cebadores diseñados específicamente para estos genes (Figura 17).

Los resultados de expresión obtenidos mediante RT-PCR en tiempo real (Figura 17) confirmaron los resultados del análisis del transcriptoma. De esta manera, confirmamos que *clpB*, *dnaJ*, *dnaK*, *groEL*, *groES*, *grpE*, *hslU*, *hslV*, *htpG*, *emrA* y *emrB* se encuentran sobreexpresados en el mutante en fase exponencial; y *tolA*, *smeU2* y *smeZ* se encuentran expresados en menor nivel en el mutante que en la estirpe silvestre en fase exponencial. Estos resultados indican que las proteínas relacionadas con estrés térmico y los componentes de la bomba EmrAB podrían estar involucradas en el mecanismo de resistencia a quinolonas de la RNasa G.

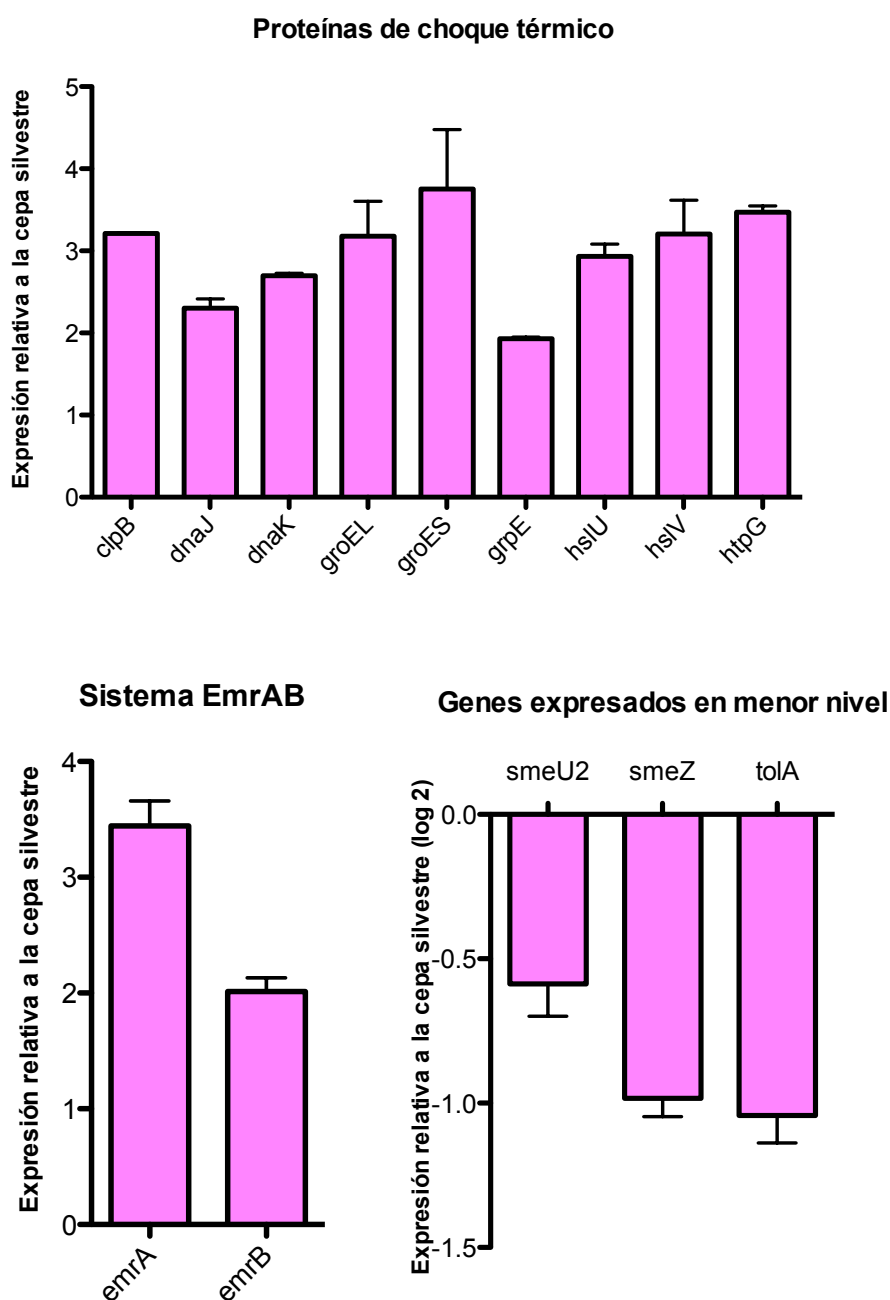


Figura 17. Análisis de expresión diferencial de genes en el mutante FSV46.

Se extrajo ARN de la cepa silvestre D457 y del mutante FSV46 en fase exponencial y se realizó RT-PCR en tiempo real de los genes: *clpB*, *dnaJ*, *dnaK*, *groEL*, *groES*, *grpE*, *hslU*, *hslV*, *htpG*, *emrA*, *emrB*, *smeU2*, *smeZ* y *tolA*. Los valores representan la expresión diferencial del gen respecto a su expresión en la cepa silvestre (que tendría el valor de 1). Estos datos están de acuerdo con los resultados de expresión de estos genes obtenidos mediante el análisis del transcriptoma.

4.3.4. Inducción de resistencia a quinolonas por choque térmico

Debido a que está reportado que los genes de las chaperonas sobreexpresados en el mutante defectivo de la RNasa G se inducen por un choque térmico (Morimoto y *col.*, 1996), diseñamos un experimento para analizar la posible implicación del choque térmico en la resistencia a quinolonas y sobre la expresión de chaperonas. Sometimos un cultivo de la cepa silvestre D457 a un choque térmico (42°C) y estudiamos la curva de mortalidad en medio con ácido nalidíxico (Figura 18A). También se incubaron las cepas silvestre y la mutante FSV46 a 42°C y tras 30 min se les agregó el antibiótico para evaluar si es necesario una previa inducción de los genes para generar la resistencia (Figura 18B). La curva de mortalidad en ácido nalidíxico de la cepa silvestre sometida a 42°C (con antibiótico a los 0 o a los 30 min) fue semejante a la del mutante creciendo a 37°C, en cambio la cepa silvestre incubada a 37°C fue muriendo por el efecto del antibiótico. No se observaron diferencias en la supervivencia del mutante creciendo con o sin antibiótico a 42 o 37°C (Figura 18B). Estos resultados confirmaron la implicación de elementos inducidos por choque térmico en el mecanismo de resistencia de *S. maltophilia* a quinolonas.

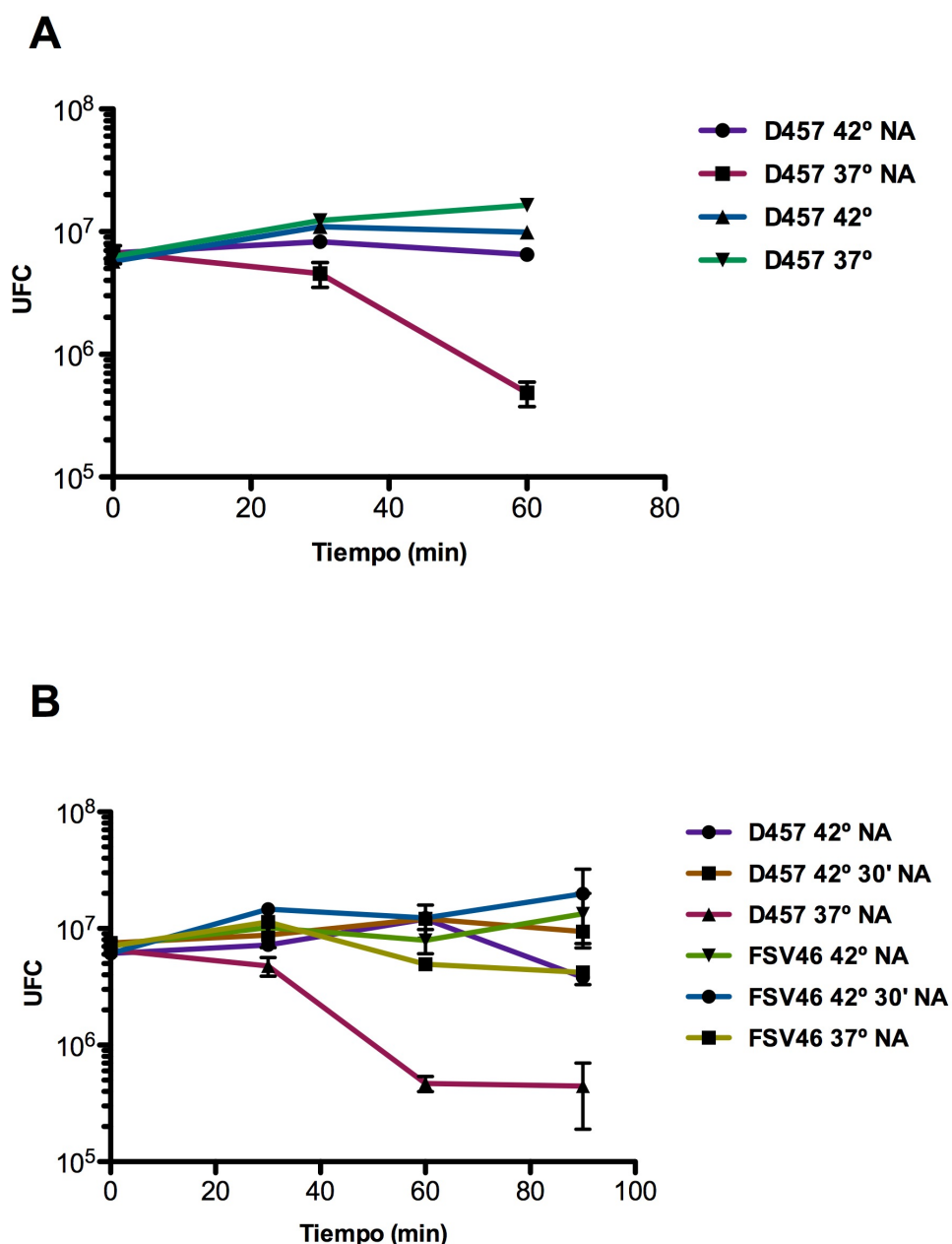


Figura 18. Efecto del choque térmico en la sensibilidad de *S. maltophilia* a ácido nalidíxico.

Cultivos de *S. maltophilia* D457 y FSV46 se crecieron a 37°C y 42°C durante 90 min con o sin ácido nalidíxico (NA) desde el minuto 0 o desde el minuto 30. Cada 30 min se contaron el número de colonias y se realizó la curva de mortalidad. Gran parte de las bacterias de la cepa D457 creciendo a 37°C mueren debido al efecto del NA, en cambio las que crecen a 42°C mantienen el número de colonias a pesar de crecer en una concentración que es inhibitoria a 37°C (A). La estirpe silvestre D457 creciendo a 42°C sobrevive al efecto del NA de manera similar a como sobrevive el mutante FSV46 creciendo a 37 o 42°C con NA (B). Los ensayos se realizaron por triplicado y la curva muestra las medias y desviaciones estándar de los distintos experimentos.

Como hemos visto, la cepa silvestre sometida a 42°C es resistente a una concentración de ácido nalidíxico que es inhibitoria a 37°C (Figura 18). Para estudiar si un choque térmico es capaz de inducir la expresión de las mismas proteínas que se encuentran sobreexpresadas en el mutante de la RNasa G resistente a quinolonas, extrajimos ARN de cultivos de la estirpe silvestre creciendo a 37°C y tras un choque térmico de 10 min a 42°C. A partir de estos ARN determinamos mediante RT-PCR en tiempo real la expresión de los genes que codifican proteínas de choque térmico y proteínas del sistema EmrAB (Figura 19). El patrón de expresión en función del choque térmico de los genes que codifican proteínas de choque térmico fue similar. Todos estos genes se expresaron a mayor nivel tras el choque térmico que a 37°C y tanto en presencia como en ausencia de ácido nalidíxico. En cambio, los genes que codifican los componentes de la bomba EmrAB no se sobreexpresan al inducir un choque térmico, lo que nos indica que esta bomba no participa en la respuesta a choque térmico y por tanto tampoco en el fenotipo de resistencia a quinolonas que presenta *S. maltophilia* durante dicho choque térmico.

De esta manera, la resistencia a ácido nalidíxico de la cepa silvestre durante el choque térmico se correlaciona con una sobreexpresión de *groEL*, *groES*, *dnaK*, *dnaJ* y *clpB* en esas condiciones.

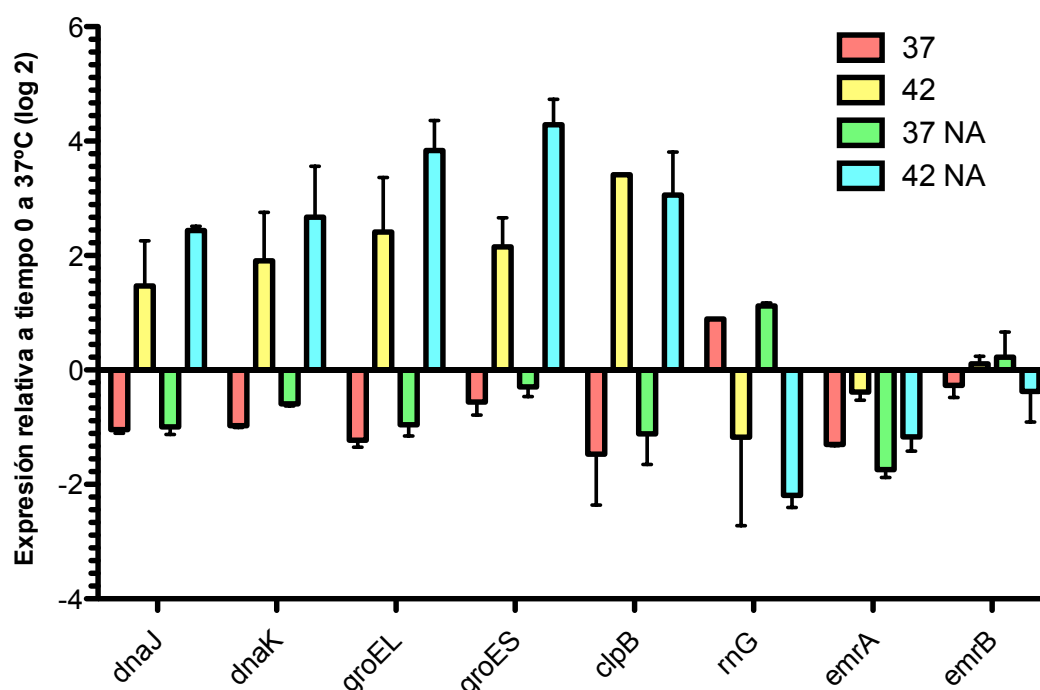


Figura 19. Expresión relativa de *dnaK*, *dnaJ*, *groES*, *groEL*, *clpB*, *rnG*, *emrA* y *emrB* a los 10 min de incubación a 37 o 42°C con o sin ácido nalidíxico en la cepa silvestre de *S. maltophilia* D457.

Cultivos de *S. maltophilia* silvestre D457 se incubaron a 37°C o a 42°C con o sin 48 µg/ml de ácido nalidíxico (NA). Se extrajo ARN de estos cultivos a los 10 min de incubación y se analizó la expresión de *dnaK*, *dnaJ*, *groES*, *groEL*, *clpB*, *rnG*, *emrA* y *emrB* mediante RT-PCR en tiempo real con cebadores específicos de estos genes en *S. maltophilia* D457. Se consideró 1 la expresión de los genes en las bacterias incubadas a 37°C a tiempo 0 min.

También analizamos la expresión del gen que codifica la RNasa G (*rnG*) en las mismas condiciones (Figura 19). La expresión de la RNasa G es menor tras el choque térmico que cuando *S. maltophilia* crece a 37°C. Estos resultados sugieren que la RNasa G ejerce un rol de regulador negativo en la inducción de la expresión de las proteínas de choque térmico que conllevan al desarrollo de una menor sensibilidad a quinolonas. Estos resultados apoyan el hecho que el mutante deficiente en la RNasa G presente una menor sensibilidad a quinolonas debido a la sobreexpresión de los genes de proteínas relacionadas con choque térmico.

4.3.5. Efecto de la inactivación de la RNAsa G en el *fitness* de *S. maltophilia*

Con el objetivo de estudiar si la mutación del mutante FSV46 que conlleva un fenotipo de resistencia a antibióticos produce en la bacteria un coste biológico estudiamos el crecimiento de esta cepa en LB y lo comparamos con el crecimiento de la cepa silvestre en las mismas condiciones. La curva de crecimiento de FSV46 muestra que el mutante no presenta una deficiencia importante en el crecimiento respecto a la cepa silvestre (Figura 20). Los mismos resultados obtuvimos creciendo las cepas en medio MH. El tiempo de duplicación del mutante es un poco mayor en LB pero la mutación no produce una deficiencia relevante en el *fitness* en la cepa mutante.

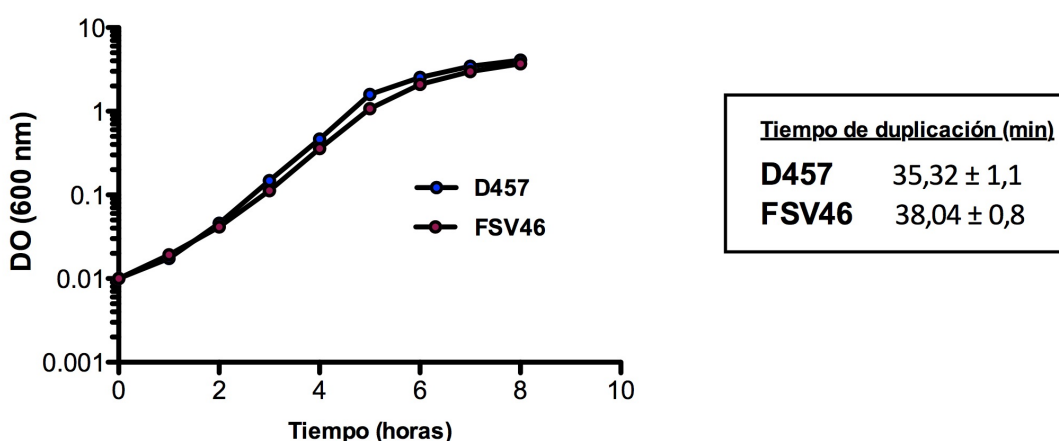


Figura 20. Curva de crecimiento del mutante FSV46 y la cepa silvestre de *S. maltophilia* D457.

Cultivos de *S. maltophilia* silvestre D457 y mutante FSV46 se crecieron a 37°C durante 8 horas en medio LB y se midió la DO cada hora. En la gráfica se representa la media y la desviación estándar de 3 réplicas. Se indican los tiempos de duplicación en min como la media de las réplicas ± la desviación estándar. No hay diferencias relevantes en las curvas de crecimiento de D457 y FSV46.

4.3.6. Efecto de la sobreexpresión de la RNasa G en la sensibilidad a quinolonas de *S. maltophilia*

Dado que la pérdida de la RNasa G hace que *S. maltophilia* sea menos sensible a quinolonas, nos planteamos si una sobreexpresión de la RNasa G podría provocar que *S. maltophilia* fuera más sensible a ácido nalidíxico. Para estudiar ésto pusimos a crecer la cepa silvestre D457, la cepa AB001 (silvestre con el plásmido control pVLT33) y la cepa AB002 (silvestre sobreexpresando la RNasa G) en presencia de distintas concentraciones de ácido nalidíxico (Figura 21). Como controles pusimos a crecer también el mutante en la RNasa G FSV46, la cepa AB003 (mutante en la RNasa G con el plásmido de expresión pVLT33) y la cepa AB004 (mutante de la RNasa G complementada con el gen de la RNasa G). El crecimiento de las cepas silvestres D457 y AB001 y del mutante complementado AB004 disminuye al aumentar la concentración de ácido nalidíxico de manera similar. El crecimiento de los mutantes en la RNasa G FSV46 y AB003 no es casi afectado por el antibiótico. La cepa silvestre sobreexpresando el gen de la RNasa G crece peor en presencia de ácido nalidíxico que la cepa silvestre (Figura 21). Estos resultados indican que la sobreexpresión de la RNasa G hace que *S. maltophilia* sea más sensible a ácido nalidíxico que la estirpe parental.

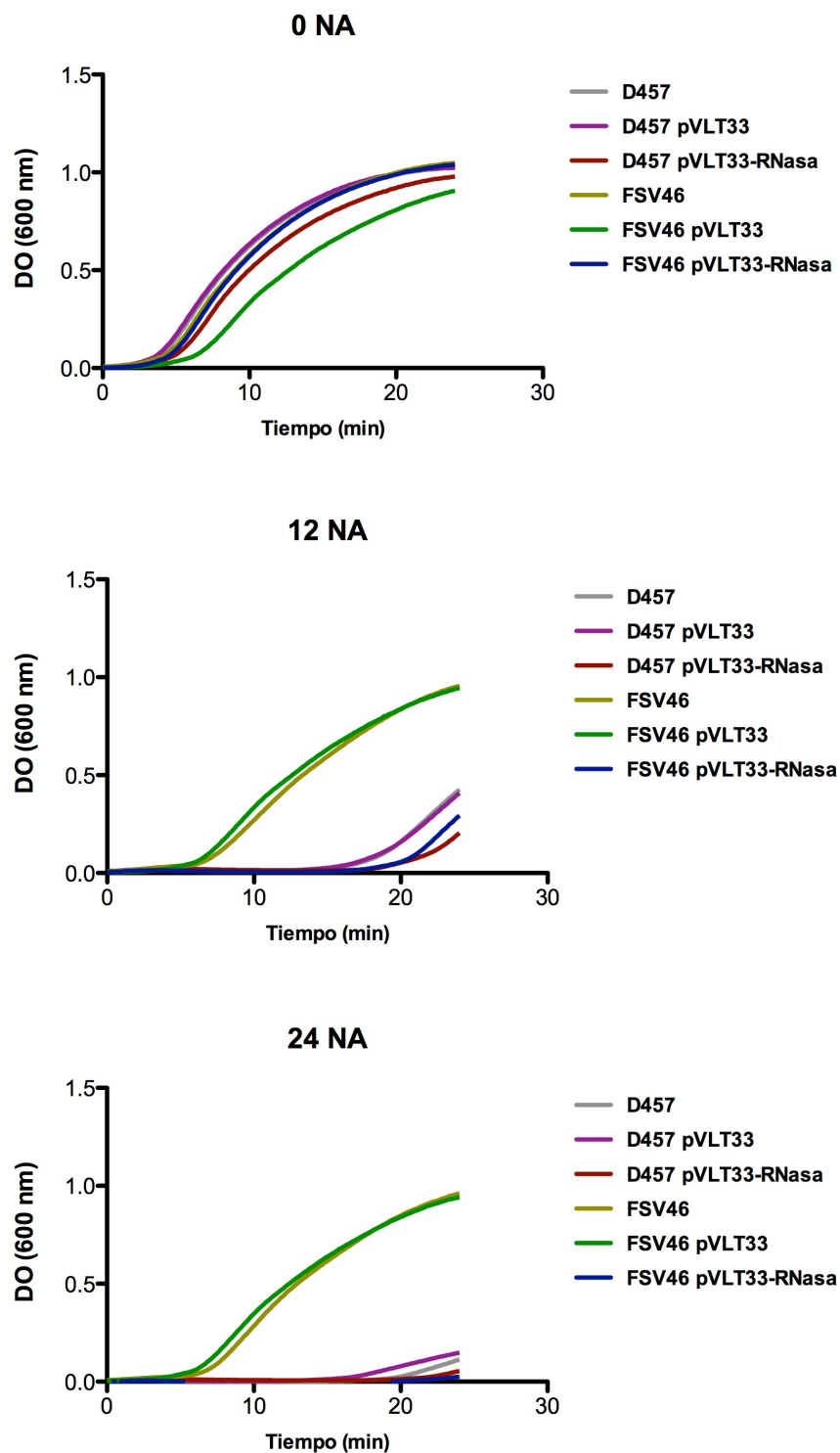


Figura 21. Efecto de la sobreexpresión de la RNasa G en el crecimiento de *S. maltophilia*.

Las cepas D457, AB001, AB002, FSV46, AB003 y AB004 se crecieron a 37°C durante 24 horas con distintas concentraciones de ácido nalidíxico (NA; 0, 12 y 24 µg/ml) y se midió la DO a lo largo del tiempo. Las gráficas representan los valores promedio de 4 réplicas. La cepa que sobreexpresa la RNasa G AB002 tiene un defecto en el crecimiento respecto a la silvestre a 12 µg/ml de ácido nalidíxico.

4.4. Estudio del mecanismo de resistencia relacionado con la AAA-ATPasa en *S. maltophilia*

El mutante G3.F1.5 es otro de los mutantes seleccionados para estudiar su mecanismo de resistencia. Este mutante es resistente a quinolonas y fosfomicina y contiene interrumpido el gen de una AAA-ATPasa (SMD_2116). AAA-ATPasa significa ATPasa asociada con una variedad de actividades celulares (*ATPase associated with diverse cellular activities*). Las proteínas de la superfamilia AAA-ATPasa se asocian a peptidasas y actúan en el reconocimiento y desdoblaje de las proteínas a degradar y en el desdoblado de complejos proteína-proteína y ADN-proteína. También presentan roles en la replicación y en el control de calidad de las proteínas y en el transporte intracelular (White y Luring, 2007; Wong y Houry, 2012). Mediante una serie de ensayos nos planteamos estudiar el mecanismo de resistencia relacionado con la AAA-ATPasa en *S. maltophilia*.

4.4.1. La AAA-ATPasa en el transcriptoma de *S. maltophilia*

A partir de los datos del transcriptoma de *S. maltophilia* D457 observamos que la AAA-ATPasa interrumpida en el mutante G3.F1.5 es la que más se expresa en la cepa silvestre en comparación a las otras AAA-ATPasas del transcriptoma (Figura 22). Respecto a todos los genes expresados la AAA-ATPasa se encuentra dentro del 25% de los genes más expresados (Figura 14). El nivel de expresión de este gen en la cepa silvestre indica que constituye un gen importante para la bacteria, al menos en estas condiciones de cultivo.

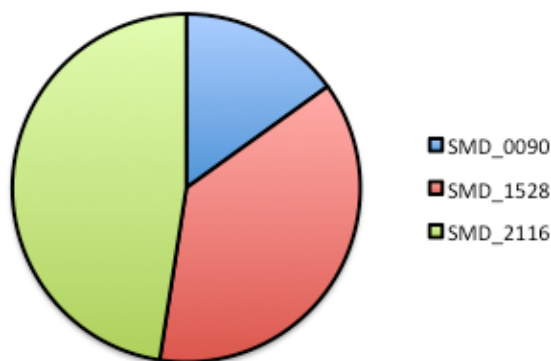


Figura 22. Expresión de las AAA-ATPasas en *S. maltophilia*.

La cepa D457 de *S. maltophilia* se creció a 0,6 de DO y se extrajo el ARN. El ADNc obtenido a partir de ARN de D457 se secuenció mediante secuenciación masiva. Se representan los valores de expresión de los 3 genes de AAA-ATPasas en *S. maltophilia*. Los valores se expresan como porcentajes siendo el 100% la suma de la expresión de las 3 AAA-ATPasas. La AAA-ATPasa SMD-2116 inactivada en nuestro mutante, es la AAA-ATPasa que más se expresa en *S. maltophilia* (48%).

4.4.2. Efecto de la inactivación de la AAA-ATPasa en la expresión génica de *S. maltophilia*

El mutante de inserción del gen de la AAA-ATPasa G3.F1.5 tiene una menor sensibilidad que la cepa silvestre a fosfomicina y a varias quinolonas. Para estudiar los genes afectados por la deficiencia de la AAA-ATPasa, y por lo tanto su relación con la resistencia o sensibilidad a antibióticos, analizamos la expresión génica de este mutante en fase exponencial y la comparamos con la expresión génica global de la cepa silvestre. Para ello utilizamos la metodología de secuenciación descrita en el caso del mutante de la RNasa G. En este caso comparamos la expresión génica en el mutante y en la cepa silvestre mediante el programa Rockhopper (McClure y col., 2013). Para calcular el valor de expresión de cada gen, este programa calcula la cantidad de lecturas por cada gen y las normaliza por la longitud del gen y el cuartil superior de la expresión génica. Luego analizamos los genes que se expresan diferencialmente en la cepa mutante en la AAA-ATPasa en comparación con la cepa silvestre. Filtramos los resultados dejando sólo aquellos genes con una relación de expresión mayor a 2 (genes sobreexpresados más de 2 veces en el mutante) y menor a 0,5 (genes expresados en menor nivel, menos de la mitad en el mutante). Los resultados del análisis se muestran en la Tabla 16 del anexo. Se pueden observar 340 genes sobreexpresados y 231 expresados a menor nivel en el mutante.

En el transcriptoma de este mutante observamos la sobreexpresión del gen codificante de un represor transcripcional de β -lactamasas, *blal*; pero esta cepa no muestra cambios en la sensibilidad respecto a los antibióticos β -lactámicos (CMI D457, CMI G3.F1.5 respectivamente: Ceftazidima 1, 1.5; Cefepime 4, 4; Aztreonam 24, 16; Imipenem >32, >32; Meropenem >32, >32 $\mu\text{g/ml}$), por lo tanto no es probable que *Blal* tenga un papel relevante en el fenotipo del mutante. El gen codificante del represor de la proteína de resistencia a quinolonas *SmQnR*, *qnrR*, se encuentra sobreexpresado, indicando que la baja sensibilidad a quinolonas de esta cepa no deriva de una activación del gen codificante de *SmQnr*, más bien de otro mecanismo. Los genes codificantes de algunas subunidades de la citocromo ubiquinol oxidasa, enzima terminal en la cadena de transporte de electrones se encuentran expresados en menor nivel: *CyoA*, *CyoB*, *CyoC*, *SMD_1692*, *CydA* y *CydB*, pudiendo indicar un cambio en el aceptor final de electrones o en el estado redox de la célula. El gen codificante de la proteína de unión a membrana del sistema de transporte de macrólidos tipo ABC, *MacA*, se encuentra expresado a menor nivel, pero este mutante no presentó mayor sensibilidad a eritromicina (Tabla 10). La expresión de *pgk*, el gen codificante de la enzima fosfoglicerato kinasa, una de las enzimas que produce ATP en la glucólisis, se encuentra expresado a menor nivel, pudiendo producir un desbalance en la producción de ATP en la bacteria, metabolito energético sustrato de la AAA-ATPasa. El gen *smeA* codificante de la proteína *SmeA* de la bomba de expulsión *SmeABC* se encuentra sobreexpresado, sin embargo la expresión de los otros componentes de la bomba no presentan una diferencia con la expresión en la cepa silvestre. Y además la cantidad de lecturas de los genes de esta bomba es muy baja como para que los resultados puedan considerarse completamente fiables. Al igual que el mutante deficiente en la RNasa G donde identificamos sobreexpresados varios genes codificantes de proteínas de choque térmico, en este mutante también los encontramos expresados en mayor nivel. Estos genes son: *clpB*, *dnaK*, *groEL*, *groES*, *grpE*, *hslU*, *hslV* y *htpG*. En base a estos resultados, es posible pensar que los mecanismos de resistencia a quinolonas de estos dos mutantes podrían estar relacionados.

4.4.3. La inactivación de la AAA-ATPasa altera la motilidad de *S. maltophilia*

Debido a que las AAA-ATPasas están involucradas en procesos que requieren energía y a que algunos de los genes codificantes de proteínas implicadas en el motor del flagelo (*motA* y *motB*) y en su biosíntesis (*fliC*), se expresan a menor nivel en el mutante que en la cepa silvestre, determinamos si la motilidad de la cepa deficiente en la AAA-ATPasa se encontraba afectada. Existen diferentes tipos de motilidad microbiana: *swarming*, *swimming* y *twitching*. Analizamos los 3 tipos en esta bacteria. Los resultados indicaron que la inactivación de la AAA-ATPasa produce la reducción del tipo de motilidad de *swimming* en *S. maltophilia* (Figura 23). Por lo tanto, la AAA-ATPasa contribuye de alguna manera al desplazamiento individual y al azar en medios líquidos generado por los flagelos, ya que su inactivación reduce la motilidad de tipo *swimming*.

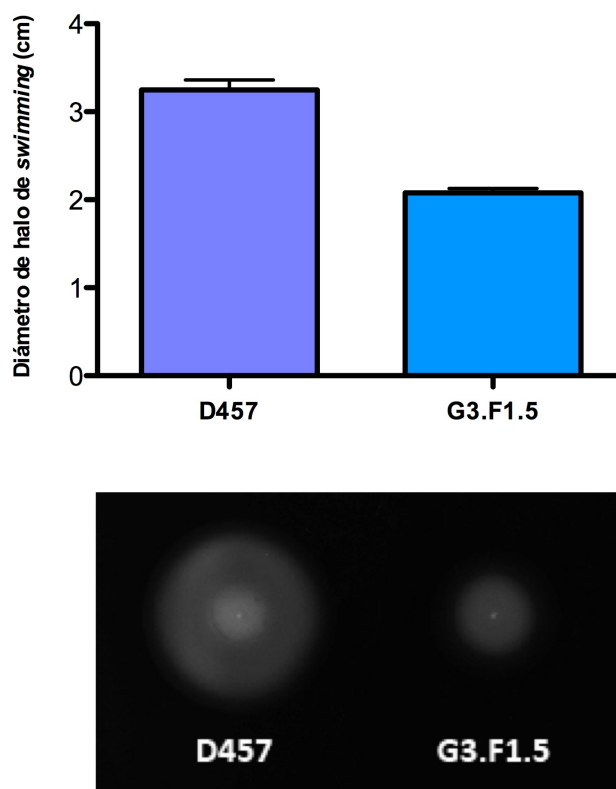


Figura 23. Motilidad tipo *swimming* del mutante G3.F1.5.

La cuantificación del diámetro de los halos de motilidad tipo *swimming* corresponde a un promedio de 10 halos para cada cepa. El mutante de la AAA-ATPasa tiene una menor motilidad *swimming* que la cepa silvestre.

4.4.4. La inactivación de la AAA-ATPasa no modifica la respuesta a estrés oxidativo de *S. maltophilia*

Debido a que las subunidades de las enzimas citocromo ubiquinol oxidasas se encontraron expresadas en menor nivel en el mutante de la AAA-ATPasa que en la cepa silvestre nos preguntamos si el estado redox de la bacteria podría estar alterado. Para estudiar el crecimiento de las cepas bajo estrés oxidativo sembramos al mutante G3.F1.5 y a la cepa silvestre D457 en placas y pusimos discos con agentes oxidantes, H₂O₂ y paraquat. El mutante deficiente en la AAA-ATPasa presenta la misma sensibilidad para los agentes oxidantes paraquat y H₂O₂ que la cepa silvestre (Tabla 13) por lo que la respuesta a estrés oxidativo parece no estar afectada en este mutante.

Tabla 13. Estrés oxidativo en G3.F1.5.

	D457		G3.F1.5	
H ₂ O ₂ 0,5 µmol	3,9*	3,9	3,7	3,7
Paraquat 80 µmol	2,6	2,6	2,5	2,6

*Los valores corresponden a diámetros de halos de inhibición en cm.

Se realizaron 2 réplicas de cada cepa.

4.4.5. La inactivación de la AAA-ATPasa produce defectos en el crecimiento en *S. maltophilia*

Para estudiar la eficacia biológica del mutante en la AAA-ATPasa, observamos en primer lugar su crecimiento en medios ricos. En la Figura 24 se muestran las curvas de crecimiento del mutante G3.F1.5 en LB y en MH. Sólo en medio MH se observa una diferencia en el tiempo de duplicación del mutante, que es mayor que en la cepa silvestre (Figura 24). Debido a que el mutante presenta un menor crecimiento en el medio MH que contiene una menor concentración de sales, pensamos que el mutante podría tener un requerimiento de sales mayor que la cepa silvestre. Para estudiar esto crecimos al mutante G3.F1.5 en LB sin sales y obtuvimos que creció de igual manera que en LB, de manera que rechazamos que el mutante tenga un mayor requerimiento de sales para crecer.

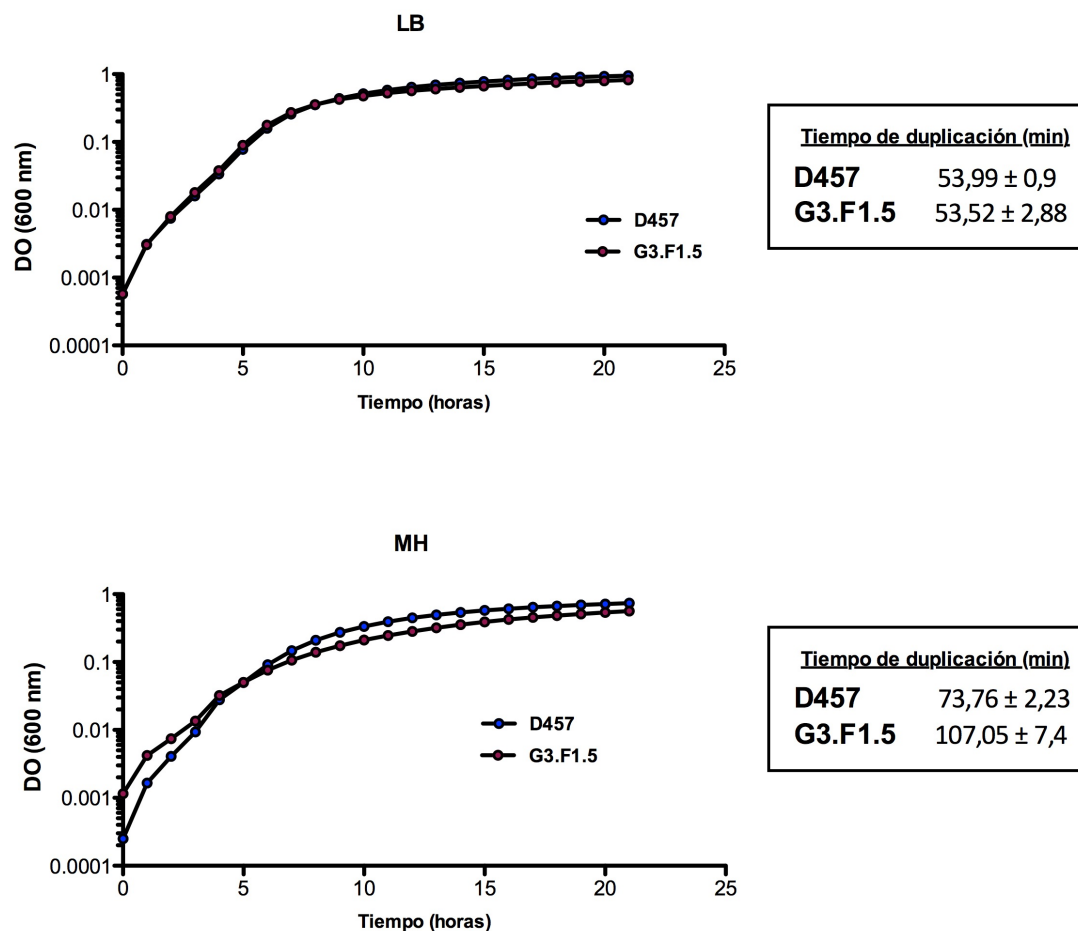


Figura 24. Curva de crecimiento del mutante G3.F1.5 y la cepa silvestre de *S. maltophilia* D457.

Cultivos de *S. maltophilia* silvestre D457 y mutante G3.F1.5 se crecieron a 37°C en LB o MH durante 24 horas y se midió la DO cada 10 min. Se indican los tiempos de duplicación en min como la media de las réplicas ± la desviación estándar. Las gráficas representan los valores promedio de 4 réplicas. El mutante G3.F1.5 tiene un menor crecimiento en medio MH.

4.4.6. El mecanismo de resistencia a fosfomicina del mutante G3.F1.5 no está relacionado con una deficiencia en la entrada del antibiótico a través de los transportadores descritos en *P. aeruginosa*.

La fosfomicina puede penetrar en la célula de *E. coli* y *P. aeruginosa* a través de los transportadores de glicerol 3-fosfato y de glucosa 6-fosfato (Castañeda-García y col., 2013). El principal mecanismo de resistencia de estas bacterias a fosfomicina consiste en defectos en estos sistemas de transporte. Como consecuencia, además de la resistencia, la bacteria tiene un crecimiento deficiente en la fuente de carbono que utiliza este transportador. A su vez estos carbohidratos son inductores de su propio sistema de transporte induciendo sensibilidad a fosfomicina (Castañeda-García y col., 2013). Sin embargo no se conoce la vía de entrada de fosfomicina en *S. maltophilia*. Para estudiar si la resistencia a la fosfomicina del mutante de la AAA-ATPasa se relaciona con una deficiente permeabilidad a la misma, estudiamos el crecimiento de este mutante en medio mínimo para *S. maltophilia* con distintas fuentes de carbono (Figura 25).

S. maltophilia no creció en manitol, glucosa 6-fosfato, glicerol, glicerol 3-fosfato ni en gluconato como fuentes de carbono únicas. Sin embargo, presentó crecimiento en glucosa, succinato y citrato y en ellas el mutante de la AAA-ATPasa no mostró una deficiencia en el crecimiento respecto a la cepa silvestre, por lo que el sistema de entrada de estas fuentes de carbono no se encuentra afectado en este mutante, sugiriendo que este no es el mecanismo que utiliza el mutante para resistir a fosfomicina.

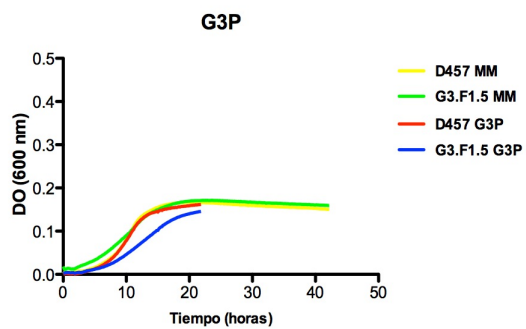
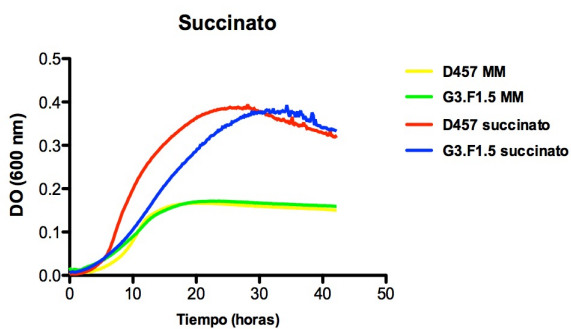
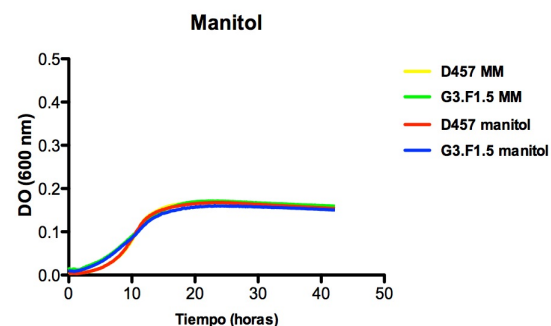
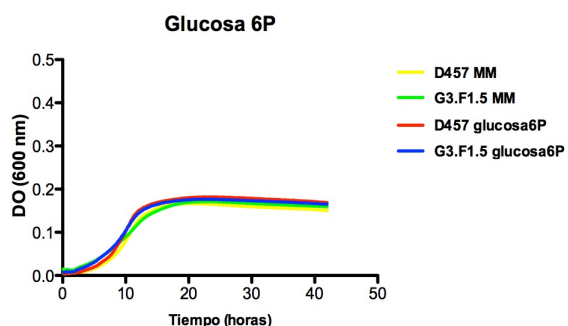
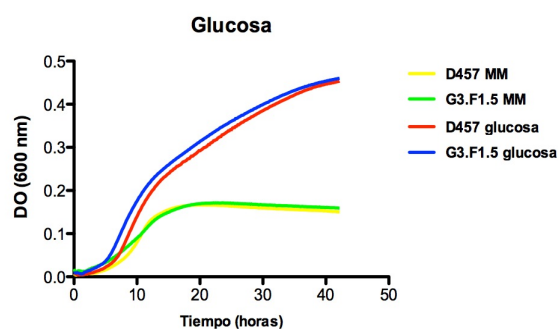
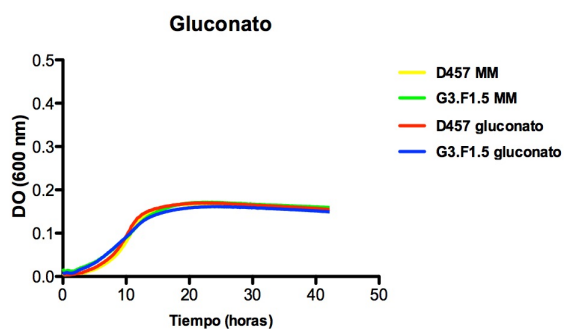
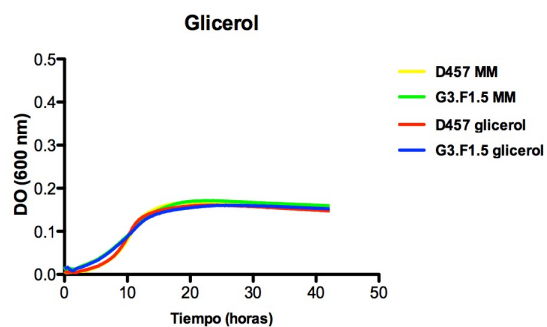
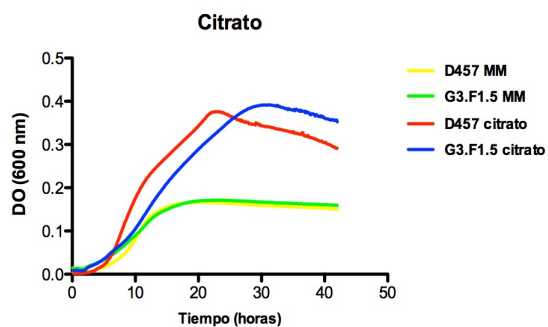


Figura 25 (página anterior). Curvas de crecimiento del mutante G3.F1.5 y la cepa silvestre de *S. maltophilia* D457 en medio mínimo con distintas fuentes de carbono.

Cultivos de *S. maltophilia* silvestre D457 y mutante G3.F1.5 se crecieron a 37°C en LB o medio mínimo conteniendo diferentes fuentes de carbono durante 48 horas y se midió la DO cada 10 min. El medio mínimo contiene pequeñas cantidades de citrato por ese motivo se incluyó como control medio mínimo sin fuentes suplementarias de carbono. Las gráficas representan los valores promedio de 4 réplicas. *S. maltophilia* no crece en medio mínimo suplementado con glicerol, gluconato, glucosa-6P, manitol y glicerol 3P (G3P). No hay diferencias de crecimiento entre el mutante y el silvestre en ninguna fuente de carbono.

A pesar de que no hemos obtenido diferencias entre las curvas de crecimiento de la cepa silvestre D457 y la cepa mutante G3.F1.5 con diferentes fuentes de carbono, indicando que la vía de entrada de ninguno de estos compuestos se encuentra afectada en la cepa mutante, esto no demuestra inequívocamente que la vía de entrada de fosfomicina no se encuentra afectada. Esto se basa en que, mientras que en *E. coli* y *P. aeruginosa* la fosfomicina entra a la célula bacteriana a través del transportador GlpT o UhpT (Castañeda-García y col., 2013), los genes que codifican estos transportadores no han sido identificados y se desconoce la vía de entrada de fosfomicina en *S. maltophilia*, por lo que otro transportador podría permitir el importe de esta molécula en la célula.

Con el objetivo de determinar si la resistencia a fosfomicina en el mutante G3.F1.5 se relaciona con la deficiencia de un transportador de membrana que importa fosfomicina en esta cepa, comparamos el perfil de proteínas de membrana en la cepa mutante G3.F1.5 y en la cepa silvestre D457. Para ello extrajimos las proteínas de las membranas bacterianas y las analizamos mediante electroforesis en gel de poliacrilamida-SDS (Figura 26). Cargamos 20 µg de proteínas en cada carril. No observamos diferencias entre el perfil proteico de las membranas externas de la cepa mutante G3.F1.5 y de la cepa silvestre D457. Tampoco hay diferencias notables a grandes rasgos en las proteínas de la membrana interna, que corresponden a las proteínas que se encuentran sólo en los carriles de las membranas totales y no en las de las membranas externas. Sin embargo, parece haber algunas diferencias en la intensidad de algunas bandas. Este experimento debe ser repetido para verificar estas diferencias y si se repiten identificar las proteínas con cantidades diferenciales. En principio estos resultados sugieren que la resistencia a fosfomicina en el mutante

G3.F1.5 no está dada por la deficiencia de la vía de entrada de este antibiótico a la célula, y que otro mecanismo puede estar funcionando para proporcionarle el fenotipo de baja sensibilidad.

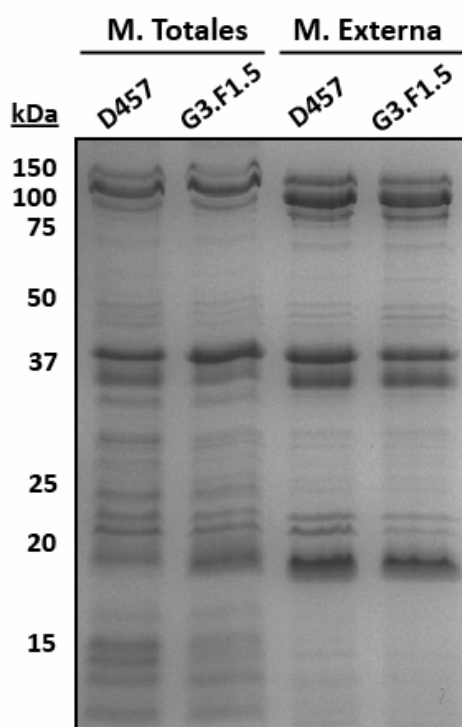


Figura 26. Perfil de proteínas de membrana del mutante G3.F1.5 y de la cepa silvestre D457.

Se aislaron las membranas de bacterias de la cepa silvestre D457 y de la cepa mutante G3.F1.5 crecidas en fase exponencial (DO 0,6). Se separaron las membranas externas (M. Externa) de las membranas internas y se muestran las membranas totales (M. Totales) y las membranas externas. Las muestras se corrieron en geles desnaturalizantes (SDS-PAGE) y se tiñeron con Coomassie blue. Se indican las masas moleculares en kDa. No se observan grandes diferencias en las proteínas de membrana entre las cepas.

4.5. Comparación de transcriptomas de FSV46 y G3.F1.5

Debido a que observamos genes de respuesta a choque térmico sobreexpresados en ambos mutantes, decidimos comparar la expresión de genes entre ellos. En primer lugar verificamos mediante RT-PCR en tiempo real la sobreexpresión de los genes de respuesta a choque térmico en el mutante G3.F1.5 (Figura 27) como lo habíamos hecho para el mutante FSV46 (Figura 17). Los resultados de la RT-PCR en tiempo real confirmaron la sobreexpresión de las proteínas de choque térmico en el mutante G3.F1.5 (Figura 27).

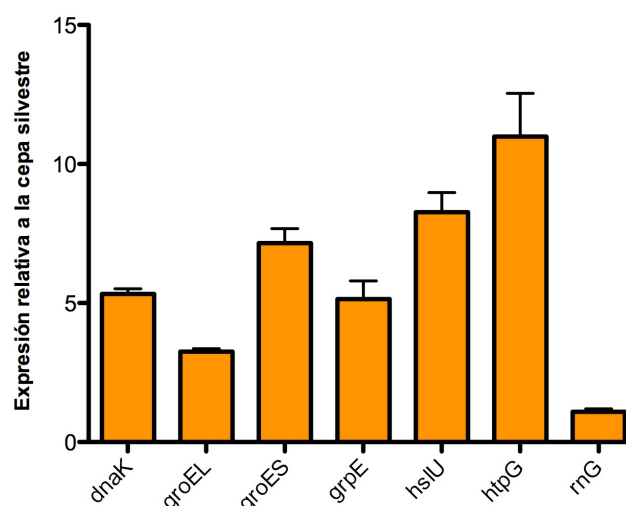


Figura 27. Análisis de expresión de genes en el mutante G3.F1.5.

Se extrajo ARN de la cepa silvestre D457 y del mutante G3.F1.5 en fase exponencial y se realizó RT-PCR en tiempo real de genes relacionados con estrés por calor. Todos los genes de respuesta a choque térmico analizados se encuentran sobreexpresados en el mutante G3.F1.5, mientras que la expresión de *rnG* no presenta cambios relevantes.

Si los mecanismos de resistencia de los mutantes FSV46 y G3.F1.5 son los mismos, podría esperarse que la expresión del gen que codifica la RNasa G disminuyese en el mutante de la AAA-ATPasa. Para analizar esta hipótesis, determinamos la expresión de la RNasa G en el mutante de la AAA-ATPasa. Como se muestra en la Figura 27 no hay cambios en la expresión del gen que codifica la RNasa G (*rnG*) en este mutante en comparación con la cepa silvestre, por lo que el mecanismo de resistencia del mutante G3.F1.5 no incluye una represión de *rnG*.

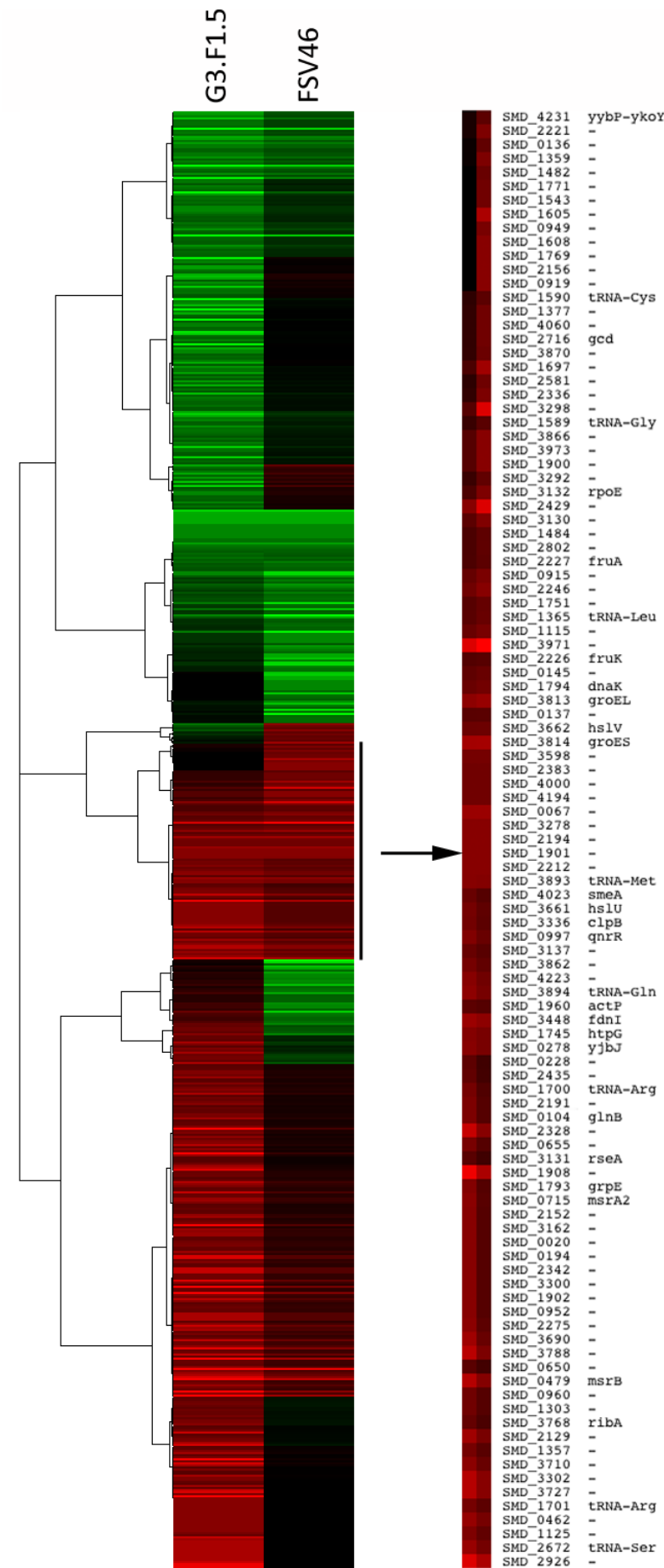


Figura 28 (página anterior). Análisis comparativo de los transcriptomas de los mutantes FSV46 y G3.F1.5.

Los transcriptomas de los mutantes FSV46 y G3.F1.5 se analizaron por secuenciación masiva de sus ARNs y los resultados de expresión de cada gen en cada mutante se relativizó a la expresión del mismo en la cepa silvestre. Los logaritmos de estos valores se utilizaron para realizar un análisis comparativo de cladograma entre los dos mutantes. El análisis de los datos se realizó mediante el programa Cluster 3.0 y se visualizó mediante el programa Java TreeView. Los resultados se representan en una escala roja-verde, donde el rojo representa los genes sobreexpresados y el verde los genes expresados en menor nivel respecto a la expresión en la cepa silvestre. En las filas los genes más agrupados representan mayor semejanza en cómo se expresan en cada mutante y el grado de correlación entre ellos se representa mediante la longitud de las ramas horizontales. Se amplían un grupo de genes sobreexpresados en ambos mutantes.

Con el objetivo de comparar los transcriptomas de los mutantes FSV46 y G3.F1.5 entre sí realizamos un análisis en el programa Cluster 3.0 para obtener árboles de agrupación de genes. Para ello, de todos los genes de *S. maltophilia*, utilizamos para el análisis sólo los genes que estaban sobreexpresados más de dos veces o expresados menos de la mitad en por lo menos uno de los dos mutantes respecto a la cepa silvestre. Utilizamos el logaritmo de los valores de expresión de los genes de cada mutante respecto a la cepa silvestre calculados mediante el programa Rockhopper. En la Figura 28 se muestran los resultados del análisis comparativo en una escala verde-rojo, indicándose en rojo los genes sobreexpresados y en verde los genes expresados en menor nivel. De esta manera observamos que hay genes que están sobreexpresados en los dos mutantes, genes expresados en menor nivel en los dos mutantes, genes sobreexpresados sólo en un mutante y genes expresados en menor nivel sólo en un mutante. Los genes con el mismo patrón de expresión se encuentran agrupados entre sí. En la ampliación de la Figura 28 se muestran los genes que se encuentran sobreexpresados en ambos mutantes. En este grupo de genes encontramos los genes que codifican proteínas de choque térmico: *clpB*, *dnaK*, *groEL*, *groES*, *grpE*, *hslU*, *hslV* y *hspG*. Estos resultados, junto con los resultados anteriormente descritos, indican que los genes implicados en choque térmico tienen un papel en la resistencia a antibióticos, ya que dos mutaciones diferentes que proporcionan resistencia a antibióticos tienen sobreexpresados componentes de este sistema. Además, como hemos visto anteriormente, la inducción de estos genes tras

choque térmico, sin que medie mutación en ningún gen, proporcionó resistencia al menos a quinolonas. A su vez, nuestros resultados indican que, para sobreponerse y sobrevivir al efecto nocivo de los antibióticos, los dos mutantes estudiados tienen mecanismos de resistencia solapados o que involucran pasos comunes en los que se incluyen la sobreexpresión de proteínas de choque térmico.

4.6. Tiempos de vida media de los ARNs de *S. maltophilia*

El mutante FSV46 de *S. maltophilia* es deficiente en la RNasa G. Como mencionamos previamente se conocen pocas dianas posibles de la RNasa G. Con el objetivo de determinar que ARNs están regulados por esta RNasa diseñamos un experimento para calcular los tiempos de vida media de todos los ARNs de *S. maltophilia*. Los ARNs que sean diana de la RNasa G no podrán ser degradados en el mutante FSV46, de manera que el tiempo de vida media de estos ARNs será mayor en esta cepa que en la cepa silvestre. Para calcular los tiempos de vida media de los ARN tratamos cultivos de la cepa silvestre D457 y de la cepa mutante FSV46 con rifampicina, antibiótico que inhibe la ARN polimerasa mediante su unión a la subunidad β de esta molécula. El tratamiento con rifampicina detiene la transcripción de los ARNs permitiendo únicamente la degradación de los mismos, haciendo posible la medición del tiempo de vida media de estas moléculas. Para calcular el tiempo de vida media de los ARNs, extrajimos ARN total de las cepas a estudiar en fase exponencial a distintos tiempos (0, 5, 10 y 15 min) luego de la incubación con rifampicina, se eliminó el ARNr y el ADNc obtenido del ARN resultante se secuenció mediante secuenciación masiva.

Debido a que la rifampicina frena la síntesis de nuevo ARN, luego de las incubaciones con rifampicina la cantidad de ARNm disminuye con el tiempo (la Figura 29 muestra 2 genes como ejemplo). Para la secuenciación masiva las muestras fueron privadas de ARNr que constituye la mayor parte del ARN total y los resultados se normalizaron teniendo en cuenta la cantidad de lecturas totales en cada muestra. Por este motivo, para los cálculos de los tiempos de vida media de los ARN fue necesario determinar un normalizador de los valores de las lecturas de los genes obtenidos mediante secuenciación masiva. Para normalizar las lecturas cuantificamos mediante RT-PCR en tiempo real la cantidad de ARNm de *groEl* y *groES* a cada tiempo luego de la

incubación con rifampicina (Figura 29). Los valores de expresión relativa de *groEL* que obtuvimos los utilizamos para normalizar los valores de las lecturas de ARNs obtenidos por secuenciación masiva. Los tiempos de vida media obtenidos para la cepa silvestre D457 y para el mutante FSV46 y la relación de estos valores se muestran en la Tabla 17 del anexo.

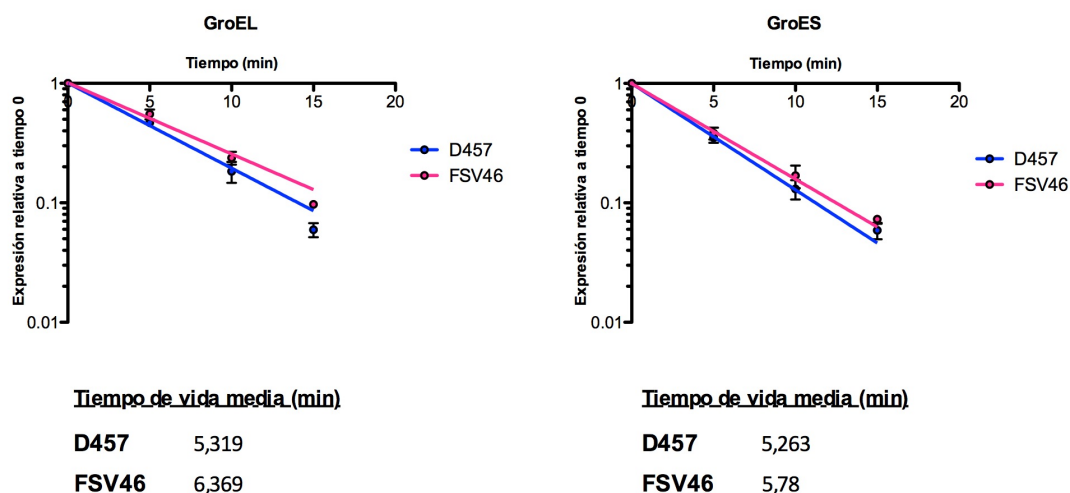


Figura 29. Tiempos de vida media de *groEL* y *groES* en D457 y FSV46.

Las cepas D457 y FSV46 se crecieron hasta DO 0,6 y se las trató con rifampicina (200 µg/ml). A los 0, 5, 10 y 15 min luego del tratamiento se extrajo ARN y se realizó RT-qPCR de los genes *groEL* y *groES*. El tiempo de vida media se calcula a partir de la pendiente de la línea de tendencia exponencial de la expresión de los genes. No se observan relevantes diferencias en los tiempos de vida media de *groEL* y *groES* entre las dos cepas.

En la Figura 30 se representan los tiempos de vida media de los ARNm y los ARNt de *S. maltophilia* en función de su expresión a DO 0,6 sin tratamiento en la cepa silvestre en fase exponencial. Los resultados revelan que mediante nuestro ensayo y normalización fue posible determinar con éxito los tiempos de vida media de los ARN en *S. maltophilia*, los cuales no habían sido reportados anteriormente en esta bacteria. Determinamos los tiempos de vida media para más de 4000 marcos de lectura abierta oscilando desde 1,5 a 613 min. Los tiempo de vida media más comunes son de pocos minutos, entre 2 y 4, siendo los tiempos de vida media mayores muy poco comunes. Cabe la posibilidad que los tiempos de vida media muy altos estén sobreestimados por ser ARNs que presentaron número de lecturas muy bajo.

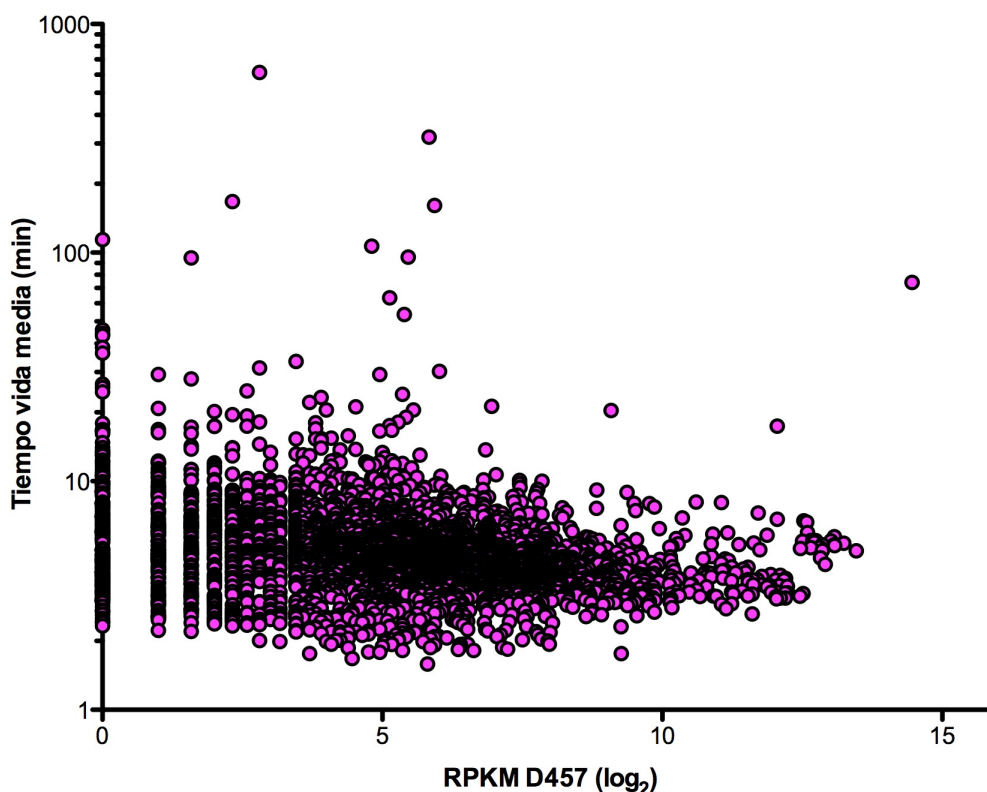


Figura 30. Tiempos de vida media de los ARN de *S. maltophilia* D457.

La cepa D457 se creció hasta DO 0,6 y se la trató con rifampicina (200 µg/ml). A los 0, 5, 10 y 15 min luego del tratamiento se extrajo ARN y el ADNc obtenido se secuenció mediante secuenciación masiva. Los valores de lecturas relativos a las lecturas totales a cada tiempo se normalizaron por la expresión de *groEL* en estas mismas muestras obtenidos mediante RT-PCR en tiempo real y se calcularon los tiempos de vida media. Se muestran los tiempos de vida media de los ARNm y de los ARNt de *S. maltophilia* D457 en función de la medición de lecturas del gen en D457 en fase exponencial expresadas como el \log_2 del RPKM. Los genes con tiempo de vida media más confiables son aquellos que presentan un mayor RPKM.

4.6.1. Efecto de la RNasa G en los tiempos de vida media de los ARNs de *S. maltophilia*.

Los ARNs que tengan mayor tiempo de vida media en el mutante que en la cepa silvestre son potenciales dianas de la RNasa G. Por tanto, para poder determinar los ARNs procesados por esta RNasa, también determinamos los tiempos de vida media de los ARN del mutante de la RNasa G de *S. maltophilia* D457. En la Figura 31 comparamos los tiempos de vida media de los ARN de la cepa silvestre D457 y la cepa

mutante FSV46 de *S. maltophilia*. Analizando los tiempos de vida media de los ARNs en la cepa silvestre D457, podemos ver que la mayoría de los ARNs tienen tiempos de vida media de pocos minutos y los ARNs con tiempos de media mayores a 10 minutos corresponden sólo al 5% de los datos. Para identificar posibles dianas de la RNasa G, tenemos que diferenciar los ARN con tiempos de vida media grandes y poco comunes. Para ello todos los valores se dividieron entre 10 y de esta manera normalizamos los resultados y obtuvimos valores simétricos respecto al tiempo de vida media de 10 minutos. Como consecuencia, los ARNs con tiempos de vida media superiores a 10 min tenían valores superiores a 1 y los que presentaban tiempo de vida media inferiores a 10 min, presentaban valores inferiores a la unidad. Una vez hecha esta primera transformación, se determinó el logaritmo en base 2 de todos los valores y los resultados obtenidos se utilizaron para realizar un *cluster* jerárquico de todos los ARNs.

Los resultados se muestran en una escala colorimétrica violeta-azul pasando por el negro, tomando como valor medio 10 min, de manera que un valor de tiempo de vida media de 10 min es de color negro y los tiempos de vida media mayores a 10 min son azules y los menores son violeta. En el *cluster* podemos observar que la mayoría de los ARNs tienen tiempos de vida media menores a 10 min en ambas cepas. Sin embargo existen algunos ARN que tienen tiempos de vida media mayores a 10 min en la cepa mutante FSV46 y mayores a los valores de tiempo de vida media en la cepa silvestre D457. Un grupo de estos ARN se muestran en la ampliación de la Figura 31. Estos genes producen ARN que son candidatos de ser regulados por la RNasa G, ya que tardan en degradarse más tiempo en el mutante de esta RNasa. Estos ARN se degradan más de dos veces más despacio en el mutante que en la cepa silvestre (Tabla 17 del anexo). Muchos de estos ARN son ARNt: *tRNA-Ile*, *tRNA-Ala*, *tRNA-Arg* y *tRNA-Tyr*, indicando que la RNasa G puede estar procesando ARNt en *S. maltophilia*.

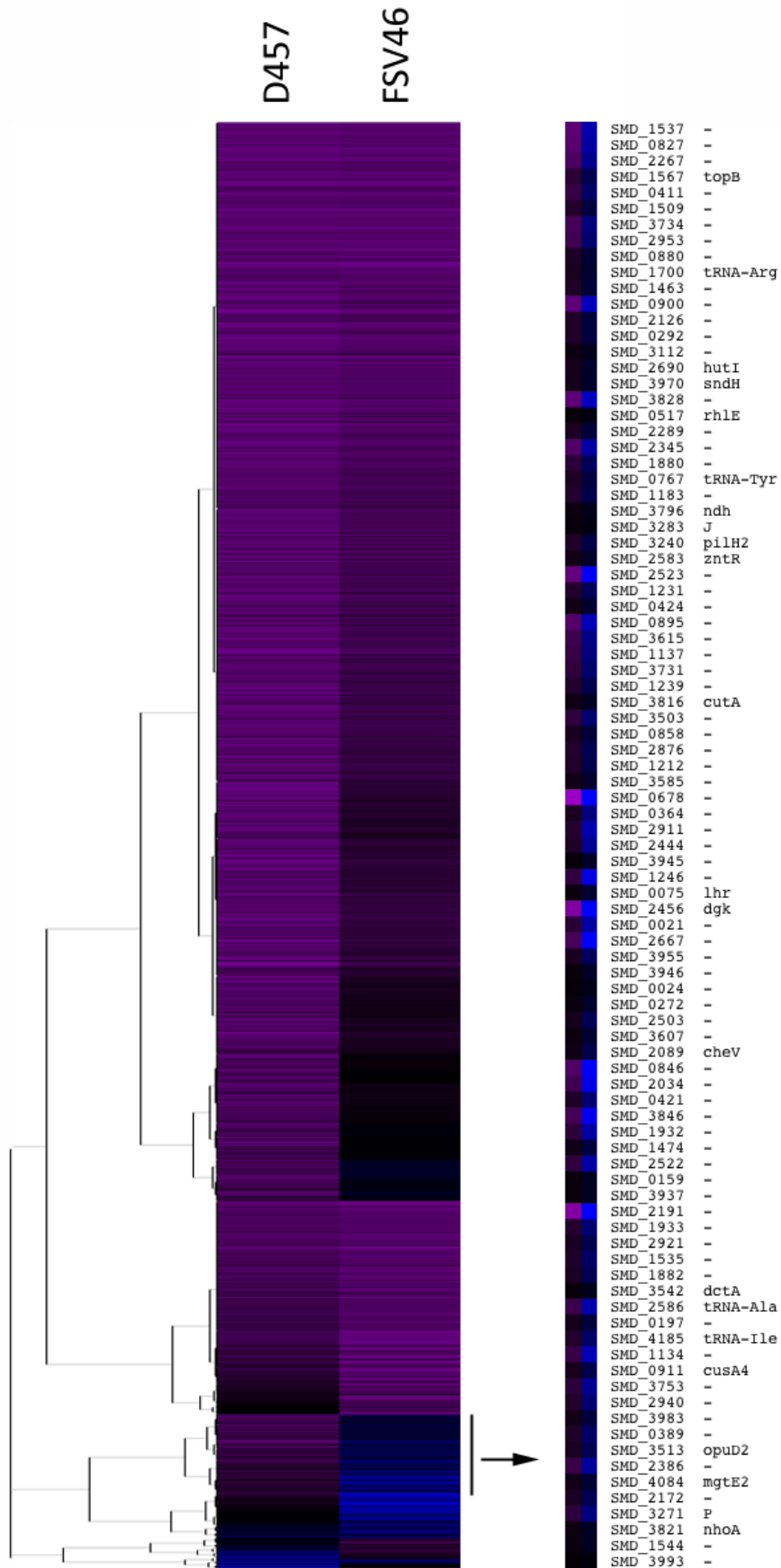


Figura 31 (página anterior). Comparación de tiempos de vida media de la cepa silvestre D457 y la mutante FSV46 de *S. maltophilia*.

Los tiempos de vida media de los ARN de *S. maltophilia* D457 y FSV46 se calcularon a partir de las lecturas de los ARN de cada gen en el tiempo luego del tratamiento con rifampicina. Los valores de lecturas relativos a las lecturas totales se normalizaron con los niveles de *groEL* en estas mismas muestras obtenidos mediante RT-PCR en tiempo real. Se realizó un *cluster* con los tiempo de vida media de ambas cepas. Los valores se representaron mediante una escala colorimétrica violeta-negro-azul. Las casillas negras corresponden a un tiempo de vida media de 10 min, las violeta a tiempos de vida media menores a 10 min y las azules a tiempos de vida media mayores a 10 min. Hay ARN que presentan tiempos de vida media mucho mayores en la cepa mutante FSV46 que en la cepa silvestre D457, estos ARNs son potenciales dianas de la RNasa G. En la ampliación se muestra una rama del árbol con estos ARN.

DISCUSIÓN

5. Discusión

Las muertes por infecciones son la segunda causa más importante de fallecimiento en todo el mundo (Morens y col., 2004). El aumento de infecciones producidas por patógenos resistentes a múltiples drogas, la diseminación de estos patógenos en los escenarios clínicos y la emergencia de los mismos en ambientes no clínicos ha ocasionado un gran interés por estudiar los microorganismos patógenos y los mecanismos de resistencia a los antibióticos que presentan los mismos. Dentro de los organismos que causan problemas en los hospitales, los patógenos oportunistas de origen ambiental juegan un papel importante. Uno de ellos es *S. maltophilia*, un patógeno oportunista muy resistente a las drogas antimicrobianas que ocupa el tercer lugar como responsable de infecciones producidas por bacilos Gram negativos no fermentadores (Sader y Jones, 2005).

Para avanzar en el conocimiento de las causas de la resistencia de este microorganismo a los antibióticos de uso común en los hospitales, en este trabajo nos propusimos identificar nuevos mecanismos de resistencia a quinolonas y otros antibióticos en *S. maltophilia* y estudiar las bases moleculares de estos mecanismos.

Como método predictivo de análisis de la resistencia utilizamos una genoteca de inserción obtenida mediante mutagénesis al azar con el transposón MiniTn5 Tc y buscamos en la misma mutantes resistentes a los antibióticos. El escrutinio de esta genoteca lo realizamos con 5 antibióticos: fosfomicina, polimixina, trimetoprim, sulfametoxazol y gentamicina. Elegimos estos antibióticos con el objetivo de estudiar mecanismos de resistencia que podrían desarrollarse frente a antimicrobianos de distintas familias. En un trabajo previo ya se había realizado un escrutinio con ácido nalidíxico, del cual fue aislado el mutante FSV46 (Salgado-Villagrán, 2011). A partir del escrutinio seleccionamos mutantes con fenotipos de sensibilidad a varios antibióticos. Mediante PCR inversa se identificó el gen interrumpido por el transposón en varios de los mutantes seleccionados y luego estudiamos con más detalle los mutantes que consideramos más interesantes. Uno de los mutantes identificados presentó interrumpido el gen *smeT*, que codifica el represor local del sistema de bombeo múltiple de drogas SmeDEF. Esta mutación provocó resistencia a cloranfenicol, eritromicina, y las quinolonas levofloxacina y norfloxacina. Este fenotipo es consistente con una sobreexpresión de la bomba SmeDEF (Alonso y Martinez, 2001). Este mutante

no fue un candidato de estudio ya que la función del gen *smeT* es conocida, pero su obtención en el escrutinio fue una validación a nuestro análisis.

El estudio de una genoteca de inserción presenta la ventaja de permitirnos estudiar la implicación de un único gen en la resistencia, pero a su vez debemos verificar que el fenotipo está dado por el gen interrumpido y no por una mutación desconocida en otro sector del genoma. Por ello descartamos los mutantes en el gen *mutS*, que codifica la proteína de reparación de emparejamientos erróneos del ADN MutS. Debido a que el sistema de reparación de ADN se encuentra alterado en estos mutantes es muy probable que tuvieran más mutaciones en otros genes, y fueran alguno de éstos o una combinación de ellos los que otorgan el fenotipo de resistencia al mutante. De esta manera trabajamos con el mutante del gen de la RNasa G (FSV46) que es resistente a quinolonas y fosfomicina, el mutante del gen de una proteína AAA-ATPasa (G3.F1.5) que es resistente a quinolonas y fosfomicina y de una proteína asociada a pared (G1.G8.35) que es resistente a quinolonas, aminoglucósidos y eritromicina. Para verificar que los fenotipos de sensibilidad de estos mutantes se deben a la interrupción de estos genes, complementamos los mutantes con vectores de expresión conteniendo el respectivo gen silvestre. El fenotipo de sensibilidad fue complementado en los mutantes FSV46 y G3.F1.5. La introducción del gen silvestre en el mutante G1.G8.35 no revertió el fenotipo asociado a dicha mutación, por lo que descartamos este mutante. Dado que los genes inactivados no tienen una función predecible en la resistencia a los antibióticos, para intentar determinar los elementos involucrados en la resistencia de estos mutantes estudiamos el transcriptoma de los mismos. En el mutante FSV46 encontramos sobreexpresadas proteínas de respuesta a choque térmico, lo que sugería que la respuesta de choque térmico podría jugar un papel en la resistencia de *S. maltophilia* a quinolonas. Para estudiar dicha posibilidad, sometimos a la cepa silvestre a un choque térmico y pudimos ver que, en esas condiciones, la estirpe silvestre resistía el efecto inhibitor del ácido nalidíxico de manera semejante al mutante FSV46. En estas condiciones, y como cabría esperar, las proteínas de choque térmico se encontraban sobreexpresadas en la cepa silvestre, indicando que estas proteínas se hallan involucradas en el mecanismo de resistencia a antibióticos que depende de la interrupción de la RNasa G. Vimos también que la sobreexpresión de la RNasa G, aumenta la sensibilidad a ácido nalidíxico de *S.*

maltophilia, hecho consistente con que la resistencia a quinolonas se da cuando el gen de la RNasa G está interrumpido. El mutante G3.F1.5, que tiene inactivada una AAA-ATPasa, presenta afectado su crecimiento en medio MH y su motilidad de tipo *swimming*. En el transcriptoma de este mutante vimos que algunos genes codificantes de proteínas del flagelo se hallan expresados en menor nivel (FliC, MotA y MotB), pudiendo tener algún efecto en la funcionalidad del flagelo y producir en consecuencia una deficiencia en la motilidad. El transcriptoma también reveló que de la misma manera que el mutante FSV46, G3.F1.5 presenta sobreexpresadas proteínas de respuesta a choque térmico indicando que los mecanismos de resistencia a quinolonas y/o fosfomicina de ambos mutantes podrían estar relacionados entre sí.

5.1. La RNasa G como regulador de la resistencia antimicrobiana en *S. maltophilia*

Las RNAsas determinan los niveles finales de cada transcrito por lo que son factores claves en el control de importantes procesos celulares. Aunque no son elementos que se hayan considerado clásicamente implicados en la resistencia a los antibióticos, algunos estudios indican que las RNasas pueden modular la sensibilidad a los antimicrobianos de los patógenos bacterianos. Por ejemplo, mutantes deficientes en la RNasa III fueron más sensibles a antibióticos cuya diana de acción es el ribosoma (Saramago y col., 2014). Estos antibióticos son los aminoglucósidos que interfieren con la síntesis de proteínas al unirse selectivamente al ribosoma bacteriano, y el cloranfenicol que inhibe la síntesis de proteínas afectando el ensamblaje de las subunidades ribosomales. Nuestro mutante deficiente en la RNasa G también mostró mayor sensibilidad a los aminoglucósidos tobramicina y gentamicina. La RNasa III, así como también la RNasa G se encuentran involucradas en el procesamiento del ARNr (Arraiano y col., 2010; Umitsuki y col., 2001). Mutantes en la RNasa R mostraron mayor sensibilidad a espectinomicina, un aminoglucósido que afecta la elongación de la traducción de proteínas, dejando ARNm sin terminar de traducir y la RNasa R se encarga de procesar estos ARNm que no se terminaron de traducir (Saramago y col., 2014). La implicación de las RNasas en el procesamiento del ribosoma podría explicar por qué los antibióticos que afectan al ribosoma son más eficientes en mutantes deficientes en estas RNasas. La deficiencia de otra RNasa, una versión defectuosa de la RNasa E aumenta la sensibilidad a eritromicina, un macrólido que también afecta la

síntesis de proteínas (Saramago y col., 2014). Las diferentes sensibilidades de los mutantes de las diferentes RNasas es indicativo de que en estos casos cada RNasa procesa diferentes tipos de ARNs.

A pesar de haberse estudiado el efecto de la inactivación de RNasas en la sensibilidad a aminoglucósidos, no se tenía conocimiento hasta el momento de que la inactivación de una RNasa hiciera a la bacteria más resistente a las quinolonas. En este sentido, nuestros resultados con quinolonas constituyen información novedosa y contraria a la obtenida en el caso de los aminoglucósidos.

La resistencia a quinolonas en microorganismos patógenos se debe en gran parte a mutaciones en los genes codificantes de las topoisomerasas bacterianas (Hopkins y col., 2005). Sin embargo, en el caso de *S. maltophilia*, distintos estudios *in vivo* e *in vitro* han demostrado que los mutantes resistentes no presentan mutaciones en dichos genes (Valdezate y col., 2005). Se ha sugerido que esto es debido a la presencia, en el genoma de *S. maltophilia*, de operones codificantes de sistemas de bombeo de quinolonas muy eficaces; en particular SmeDEF (Alonso y Martinez, 2000) y SmeVWX (Chen y col., 2011). Nuestros resultados proporcionan a su vez información sobre otro mecanismo de resistencia a quinolonas que no se relaciona ni con mutaciones en topoisomerasas ni con sistemas de bombeo múltiple de drogas, y que no había sido reportado anteriormente.

La maquinaria molecular que gobierna la degradación del ARNm difiere en las bacterias patógenas y sus huéspedes eucariotas, y estas diferencias pueden explotarse para el descubrimiento de nuevas drogas antimicrobianas (Kushner, 2004). Debido a estas diferencias las RNasas esenciales, como la RNasa E, son potenciales dianas de agentes inhibidores antimicrobianos (Eidem y col., 2012). En bacterias, el iniciador de la degradación del ARNm es un complejo multiproteico llamado ARN degradosoma (Figura 32). Este complejo se ha caracterizado en *E. coli* y consiste de al menos 4 proteínas: ARN helicasa B, enolasa, polinucleótido fosforilasa y RNasa E (Carpousis, 2002). Además otras endorribonucleasas independientes que cortan ARN de cadena simple contribuyen a la degradación del ARNm, incluyendo la RNasa G, la RNasa II y la RNasa R (Drider y Condon, 2004; Ito y Ohnishi, 1983; Umitsuki y col., 2001) (Figura). La RNasa G se ha encontrado en los microorganismos ESKAPE Gram negativos: *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *Enterobacter cloacae* y *E. coli* y no hay

ortólogos en humanos. Sin embargo, no es una proteína esencial (Eidem y col., 2012). Al considerar dianas para desarrollar antibióticos se ha pensado habitualmente en las RNAsas esenciales; sin embargo el bloqueo de factores de virulencia y/o la inhibición de genes requeridos para la supervivencia *in vivo* en el huésped también pueden prevenir la infección. Se han identificado muchos factores de virulencia en bacterias y se ha encontrado que ciertas RNAsas controlan su expresión (Andrade y Arraiano, 2008; Cheng y col., 1998). Estas RNAsas constituyen potenciales dianas de antimicrobianos para la búsqueda de drogas a usar desde un punto de vista de tratamiento anti-virulencia. Sin embargo, esta posibilidad podría verse comprometida si la inhibición de la RNasa produjese efectos no deseados. Nuestros resultados apuntan a que la deficiencia en una RNasa, hace a la bacteria más resistente a antibióticos. Es cierto que la inhibición de la RNasa por una droga dirigida contra la misma sería transitorio, de modo que una vez eliminada la droga que inhibiese la RNasa, la bacteria recuperaría su fenotipo de sensibilidad a los antibióticos. Sin embargo, esta inducción de resistencia cuando la RNasa es inhibida, podría comprometer el uso de RNAsas como blancos potenciales de nuevos antimicrobianos. En cualquier caso, es importante destacar que el efecto sobre la sensibilidad a los antibióticos de la inactivación de la RNasa G es específico de *S. maltophilia*, dado que en esta tesis se ha visto que la inactivación de la RNasa G no cambia la sensibilidad a los antibióticos de *P. aeruginosa*. Por tanto, la posibilidad de usar las RNAsas como blanco debe evaluarse independientemente para cada microorganismo.

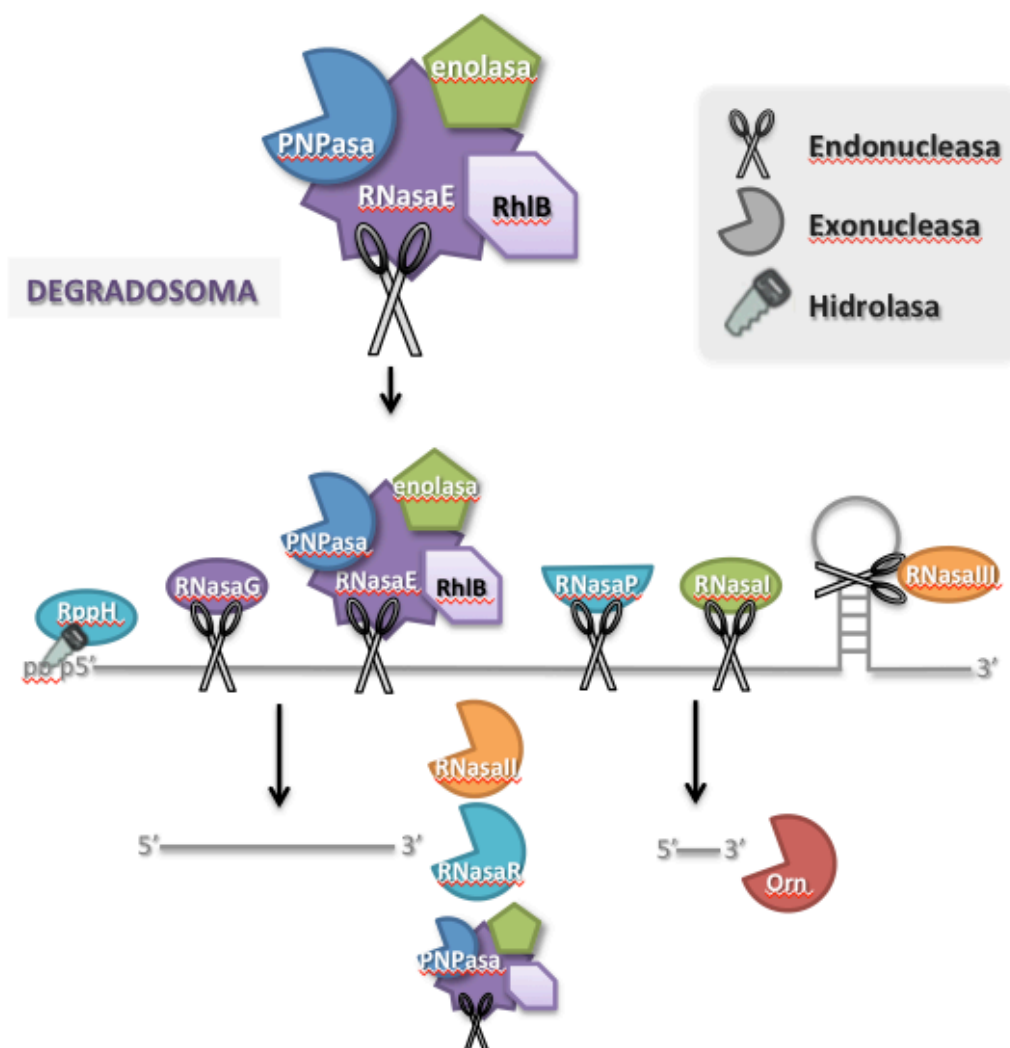


Figura 32. Mecanismo de degradación del ARN en *E. coli*.

Modelo del degradosoma y las vías de degradación en *E. coli*. El degradosoma de *E. coli* incluye a la helicasa de ARN B (RhIB), la enolasa, la polinucleótido fosforilasa (PNPasa) y la RNasa E. El inicio de la degradación de un ARNm ocurre con la ruptura interna por la RNasa E. La ARN 5' pirofosforilasa (RppH) corta los extremos 5' trifosfatos, proporcionando transcritos 5' monofosfatos. Otras endorribonucleasas independientes del degradosoma pueden cortar ARNs de cadena simple, mientras que la RNasa III corta ARNs de doble cadena que forman estructuras secundarias. Los productos resultantes son digeridos por la PNPasa del degradosoma, por la RNasa R o por la RNasa II en sentido 3'→5', y los fragmentos resultantes son degradados a nucleótidos por la endorribonucleasa Orn en sentido 3'→5'. Adaptado de Eidem y col. (2012)

En *P. aeruginosa* se ha visto que el sistema de dos componentes BfiSR regula el desarrollo del *biofilm* controlando los niveles de los ARN pequeños a través de la RNasa G (Petrova y Sauer, 2010). En este trabajo la RNasa G degradó específicamente el ARN pequeño *rsmZ*, y no *rsmY*. La RNasa G es parólogo a la RNasa E, esencial en *E. coli*. Pero mientras que la RNasa E juega un rol clave en la degradación de ARNm y en el procesamiento de ARNt y ARNr en *E. coli*, las funciones de la RNasa G parecen ser más limitadas. Ambas RNasas comparten la capacidad de cortar ARN en fragmentos de cadena simple ricos en AU y prefieren los sustratos que llevan un grupo monofosfato en el extremo 5' (Lee y col., 2002). En *E. coli* y otras proteobacterias, la RNasa E está involucrada en el recambio de la mayoría de los ARNm (Carpousis, 2007) y el proceso de degradación suele ser continuado por otras RNasas. A pesar de que se ha visto en éste y otros trabajos (Fonseca y col., 2008; Mader y col., 2008) que la falta de una RNasa altera el tiempo de vida media de un transcrito, la degradación de los ARN suele involucrar una combinación de varias RNasas. Se ha visto que la RNasa G se requiere sólo para la degradación de los transcritos de los genes *adhE* y *eno* y para el procesamiento del ARNr 16S y 23S (Kaga y col., 2002; Song y col., 2011; Tock y col., 2000; Umitsuki y col., 2001). Sin embargo el descubrimiento de que la sobreexpresión del gen *rnG* restaura la viabilidad de un mutante de delección de la RNasa E y reduce la acumulación de aproximadamente 100 transcritos, sugiere un rol más amplio para la RNasa G en el procesamiento del ARN (Lee y col., 2002). De hecho, una mutación en el dominio RNasa H de la RNasa G conlleva a la complementación de mutantes de delección de la RNasa E (Chung y col., 2010). Nuestros resultados apoyan la idea de que la RNasa G tiene un papel amplio en el procesamiento de ARNs, al menos en *S. maltophilia*, dado que más de 500 genes tienen el doble de vida media o más en el mutante de la RNasa G que en la cepa silvestre.

También hay que tener en cuenta que muchas RNasas no esenciales exhiben actividades redundantes, y como resultado, las funciones de una RNasa pueden ser compensada por otras. Por esta razón es dificultoso el estudio de las dianas de una RNasa específica. Sin embargo, nuestros resultados corresponden a un fenotipo obtenido de un mutante deficiente en una única RNasa, indicando que el mecanismo de resistencia corresponde a funciones específicas no redundantes de la RNasa G. Hay que considerar que la falta de la RNasa G en el mutante FSV46 podría generar una

respuesta compensatoria a la pérdida de función alterando la expresión de otras enzimas involucradas en el recambio de ARN, como la sobreexpresión de otra RNasa. Sin embargo, ninguna de las RNasas presentes en *S. maltophilia* D457 tiene una mayor expresión en el mutante de la RNasa G (el gen cuya expresión cambia más es el que codifica la RNasa HI, con una expresión relativa de 1,24 en el mutante respecto a la cepa silvestre), indicando que ninguna RNasa equilibra el efecto de la falta de la RNasa G. Probablemente esto se deba a que como hemos visto, el fenotipo obtenido en el mutante no conlleva coste biológico.

Nuestro ensayo de medición de degradación de ARN y la posterior normalización nos ha hecho posible calcular los tiempos de vida media de los ARNs de *S. maltophilia*. Los datos disponibles en los organismos estudiados hasta el momento indican que cada transcrito tiene un tiempo de vida media característico y diferentes propiedades del ARN como por ejemplo la propensión a plegarse apenas sale del ribosoma puede afectar la tasa a la que dicho ARN puede ser atacado por una RNasa. También la vida media de un transcrito se ve afectada por su accesibilidad, dado que la traducción activa provoca que el transcrito esté dentro de los ribosomas, que protege a dichos mRNAs de la degradación por RNasas (Leroy y col., 2002). A su vez, la secuencia del ARN afecta su degradación, siendo el trifosfato en el extremo 5' una frecuente protección contra algunas RNasas (Celesnik y col., 2007). Otras RNasas identifican secuencias específicas dentro del transcrito. Por ejemplo, la RNase R de *E. coli* es particularmente activa en ARNs conteniendo secuencias REP (Cheng y Deutscher, 2005).

La inactivación de la RNasa G condujo a un gran incremento en el tiempo de vida media de transcritos de ARNt como *tRNA-Ile*, *tRNA-Ala*, *tRNA-Arg* y *tRNA-Tyr*. La RNasa G se ha visto involucrada junto a la RNasa E en el procesamiento de los transcritos de ARNt en *E. coli* (Mohanty y Kushner, 2008), previamente se había indicado que la RNasa G no participaba de modo directo en la maduración de los ARNt (Ow y col., 2003). Se cree que el rol de la RNasa G puede estar enmascarado por la RNasa E que se expresa 10 veces más que la RNasa G (Briant y col., 2003). La implicación de la RNasa G en la degradación de los ARNt no se ha estudiado previamente y en general se tiene poca información de la composición y dinámica de las poblaciones de ARNts maduros. Además existen varios ARNt que cargan el mismo aminoácido y se sabe muy poco de

las abundancias relativas de estos isoaceptores. Sin embargo, la abundancia de los ARNt es crítica para la expresión génica y la desigualdad relativa en la cantidad de los mismos podría ser un elemento importante para la regulación de los niveles de expresión de subgrupos específicos de genes. Nuestros resultados indican que la RNasa G degrada ciertos ARNt, ya que sus tiempos de vida media en el mutante son del orden de 8 veces mayores que en la cepa silvestre. Aunque los estudios de RT-PCR en tiempo real indican que el tiempo de vida media de los mensajeros de *groEL* es ligeramente superior en el mutante en la RNasa G, la variación es en el entorno del 10 %, lo que sugiere que la RNasa G no interviene de modo directo en la degradación de los mensajeros codificantes de las proteínas de choque térmico de *S. maltophilia*. Sin embargo, la degradación selectiva de ciertos ARNt podría involucrar algún mecanismo de regulación de la expresión de ciertos genes que codifiquen proteínas que requieran un uso abundante de los ARNt diana de la RNasa G, permitiendo que algunos genes se expresen y otros no cuando la RNasa G está activa.

5.2. La AAA-ATPasa y su papel en resistencia

El gen interrumpido en el mutante G3.F1.5 codifica una proteína AAA-ATPasa. Las siglas AAA definen a un grupo de proteínas que tienen un dominio ATPasa asociado con múltiples actividades celulares: proteínas AAA+. El dominio AAA de las proteínas AAA+ se encuentra muy conservado en todos los organismos y estas proteínas se hallan involucradas en el control de muchos procesos vitales, incluyendo la fusión de las membranas, regulación del ciclo celular, biogénesis de organelas, reparación y degradación de proteínas (Beyer, 1997; Neuwald y col., 1999; Ogura y Wilkinson, 2001). La diversidad funcional de las proteínas AAA+ está causada por la presencia de dominios adicionales que se unen al dominio AAA (Mogk y col., 2008).

Estas proteínas forman oligómeros entre ellas y con peptidasas y chaperonas para formar complejos multiproteicos funcionales. El dominio AAA es el que media la selección de sustratos de estos complejos y se encarga de la hidrólisis del ATP que impulsa la oligomerización de las proteínas AAA+, llevando a la formación de una estructura con forma de barril con un canal central. La energía de la hidrólisis del ATP de las proteínas AAA+ se usa también para generar energía mecánica para remodelar sus sustratos y hacerlos accesibles a las peptidasas o chaperonas (Mogk y col., 2008).

Como consecuencia, en estos sistemas las AAA-ATPasas juegan papeles cruciales en el replegamiento y degradación de proteínas mal plegadas (Wang y col., 2001). Estos sistemas proteolíticos son también fundamentales en controlar las vías de señalización celular porque degradan proteínas regulatorias (Sauer y col., 2004). Otras proteínas AAA+ tienen roles en la iniciación de la replicación (Davey y col., 2002). Aunque se han postulado una gran variedad de funciones para estas AAA-ATPasas, muchas de sus funciones celulares no se han caracterizado (Wong y Houry, 2012). Debido a que las AAA-ATPasas funcionan con peptidasas y chaperonas en situaciones de estrés, la sobreexpresión de los genes que codifican proteínas de choque térmico podría compensar la falta de la AAA-ATPasa en el mutante G3.F1.5.

Para determinar la causa de la resistencia a fosfomicina en el mutante G3.F1.5, estudiamos el principal mecanismo de adquisición de resistencia a este antibiótico; defectos en su transporte al interior celular (Castañeda-García y col., 2013). Los transportadores de hexosas fosfato y glicerol fosfato son las vías que utiliza la fosfomicina para entrar en la célula. En *E. coli* la fosfomicina entra al interior celular por los transportadores de glucosa 6-fosfato (UhpT) y de glicerol 3-fosfato (GlpT), éste último es la única vía de entrada en *P. aeruginosa* (Castaneda-Garcia y col., 2009). Cepas deficientes en la entrada de fosfomicina no son capaces de crecer utilizando como única fuente de carbono los sustratos específicos que moviliza el transportador. En *S. maltophilia* no se conoce el mecanismo por el cual ingresa a la célula la fosfomicina. El mutante G3.F1.5 resistente a fosfomicina creció de igual manera que la cepa silvestre en todas las fuentes de carbono que estudiamos. Además cuando observamos las proteínas de membrana de ambas cepas, no detectamos grandes diferencias en el perfil proteico. Por lo tanto, la resistencia a fosfomicina de este mutante no parece estar relacionada con una deficiencia en transportadores de membrana y una entrada disminuida de la fosfomicina.

Otra estrategia de las bacterias para resistir a fosfomicina es modificando este antibiótico. Existen varias enzimas capaces de modificar fosfomicina, produciendo cambios químicos en su estructura e inactivándola, como FosA, FosB y FosX. Estas enzimas catalizan la apertura del anillo oxirano del antibiótico, dejándolo inefectivo (Rigsby y col., 2005). Los genes que codifican estas enzimas no se han encontrado en *S. maltophilia*. Sin embargo, es posible que otras metaloenzimas o kinasas modifiquen la

fosfomicina de manera de producir resistencia en *S. maltophilia*. De alguna manera la AAA-ATPasa interrumpida en el mutante G3.F1.5 podría estar involucrada como modulador de la actividad de enzimas modificadoras de fosfomicina o de algún otro mecanismo que otorgue a la bacteria los altos niveles de resistencia a este antibiótico observados en este mutante.

5.3. El choque térmico en la resistencia a antibióticos

Muchas condiciones de estrés en las bacterias inducen la síntesis de más de 20 proteínas de choque térmico. La mayoría de las proteínas de choque térmico son chaperonas moleculares, como DnaK, DnaJ, GrpE, GroEL y GroES, y proteasas, como HslU, HslV y Lon. Dos funciones importantes para la supervivencia celular han sido tradicionalmente atribuidas a las chaperonas moleculares: (a) prevenir la agregación de proteínas desplegadas y (b) asistir en el correcto replegamiento de los polipéptidos desnaturalizados unidos a las chaperonas. (Mogk y col., 1999; Thomas y Baneyx, 2000; Zahn y col., 1996).

Cuando una bacteria se expone a un antimicrobiano dado cambia la expresión de una compleja variedad de genes, incluyendo no sólo genes que codifican sistemas de protección frente a la presencia del antibiótico, sino otros muchos genes no directamente implicados en dicha respuesta (Brazas y Hancock, 2005; Fajardo y col., 2008; Goh y col., 2002; Linares y col., 2006). Los genes afectados intuitivamente más esperables son aquellos que son alterados como una consecuencia directa de la inhibición de la diana del antibiótico, por ejemplo los antibióticos cuya diana es la replicación del ADN van a inducir la respuesta SOS de reparación de ADN (Shaw y col., 2003). Pero también otro grupo de genes afectados incluyen aquellos que no se alteran directamente por la inhibición de la diana, pero que son relevantes para la respuesta del organismo al estrés inducido por el antibiótico. Este grupo incluye genes que median respuestas generales de estrés (por ejemplo de respuesta estricta y de choque térmico) (Gmuender y col., 2001). Éstos no son genes que codifiquen proteínas de respuesta a un antibiótico específico, sino que su función es compensar las alteraciones sufridas por la bacteria para mantener la homeostasis celular. La respuesta de choque térmico que ayuda a la supervivencia celular en altas temperaturas y en otras situaciones de estrés, es frecuentemente inducida en

respuesta a varios antibióticos. Los aminoglucósidos inducen genes de respuesta a choque térmico en *E. coli* (Shaw y col., 2003), *A. baumannii* (Cardoso y col., 2010) y *P. aeruginosa* (Kindrachuk y col., 2011). De manera semejante, los agentes que afectan específicamente la pared celular, bacitracina, D- cicloserina y oxacilina provocan respuestas de estrés en *S. aureus* (Utaida y col., 2003); y puromicina en *Streptococcus pneumoniae* (Sabina y col., 2003). En el caso de *P. aeruginosa*, la exposición a concentraciones letales de tobramicina provoca la inducción de numerosos genes de choque térmico y de la proteasa alternativa a Lon, AsrA, que fue la encargada de mediar la expresión de estos genes. Mediante un promotor inducible se sobreexpresó esta proteasa. En ausencia de tobramicina esta sobreexpresión incrementó la expresión de los genes de choque térmico y en presencia de tobramicina provocó una protección a corto plazo contra niveles letales de este antibiótico, pero no afectó la CMI de la tobramicina, que se mide tras un tiempo más prolongado, lo que significa que el efecto es transitorio (Kindrachuk y col., 2011). Consistente con esto, un pretratamiento durante 30 min a 45°C hizo a las bacterias *A. baumannii* más capaces de sobreponerse a una exposición a estreptomicina que bacterias creciendo a 37°C (Cardoso y col., 2010). Una explicación de la protección por parte de los componentes de la respuesta de choque térmico frente a los aminoglucósidos puede ser que éstos se encarguen de eliminar los polipéptidos aberrantes mal traducidos que son producidos por los ribosomas inactivados por los aminoglucósidos reduciendo por lo tanto la toxicidad en estas células (Kohanski y col., 2008). Un choque térmico también incrementó la tolerancia de *P. aeruginosa* a carbapenemas (Murakami y col., 2005). Debido a que los β -lactámicos no son conocidos por generar proteínas aberrantes o mal plegadas, podría ser que las chaperonas de la respuesta a choque térmico contribuyan a la resistencia contra los β -lactámicos estabilizando las enzimas que sintetizan componentes de la pared celular como se ha visto en *S. pneumoniae* (Tran y col., 2011).

En nuestro trabajo hemos visto que la inducción de la expresión de los genes de choque térmico de *S. maltophilia* se produce tras la exposición del cultivo a 42°C. Asimismo, vimos que a corto plazo esta inducción protegió a *S. maltophilia* de los niveles letales de ácido nalidíxico. De la misma manera que se obtuvo para *P. aeruginosa* expuesta a tobramicina y carbapenemas y *A. baumannii* expuesta a

estreptomycin, la respuesta de choque térmico protegió a *S. maltophilia* de los efectos letales de los antibióticos. Estos resultados en conjunto proporcionan evidencias de que la sobreexpresión de los genes de choque térmico no son sólo una respuesta al estrés producido por un antibiótico luego de la exposición al mismo, si no que también constituye un factor importante en la protección de la bacteria a estos agentes. A su vez este mecanismo de resistencia puede ser inducido por vías diferentes y parece no ser específico de un único grupo de antibióticos.

Respecto al mecanismo de acción de las quinolonas, está bien estudiado que estos antibióticos interfieren en la topología cromosómica afectando las topoisomeras bacterianas tipo IIA, la ADN girasa y la topoisomerasa IV. Atrapando estas enzimas en el paso de desnaturalización del ADN impiden que este vuelva a hibridar. Como resultado la maquinaria de replicación queda bloqueada llevando a la inhibición de la síntesis del ADN que causa inmediatamente bacteriostasis (Drlica y col., 2008). Sin embargo, los pasos que llevan a la muerte celular no están claramente comprendidos, aunque se sabe que rupturas en el ADN, fragmentación del cromosoma y producción de especies reactivas de oxígeno son acontecimientos involucrados en dicha muerte (Cheng y col., 2013).

La girasa bacteriana se compone de dos subunidades GyrA y dos subunidades GyrB (Pommier y col., 2010) y la topoisomerasa IV, un homólogo de la girasa, se compone de dos subunidades ParC y dos subunidades ParE (Kato y col., 1992). En bacterias Gram negativas mutaciones en *parE*, *parC* y *gyrA* provocan altos niveles de resistencias a quinolonas (Belland y col., 1994; Chen y col., 1996; Heisig, 1996; Khodursky y col., 1995). En bacterias Gram negativas la diana primaria es la girasa, mientras que en bacterias Gram positivas la diana primaria es generalmente la topoisomerasa IV (Blanche y col., 1996). *S. maltophilia* requiere una especial atención en este punto, ya que a pesar de que este microorganismo presenta resistencia a quinolonas, esta baja sensibilidad no se relaciona con mutaciones en ninguno de estos genes (Valdezate y col., 2005). Otros son los mecanismos mediante los cuales *S. maltophilia* se sobrepone al efecto nocivo de estos antibióticos, esencialmente la sobreproducción de sistemas de bombeo múltiple de drogas, pero aún quedan sin elucidar otros mecanismos implicados en dicha resistencia.

En la presente tesis se ha determinado que la deficiencia de dos genes que codifican dos proteínas diferentes, en principio no relacionadas funcionalmente, la AAA-ATPasa y la RNasa G, provoca una menor sensibilidad a las quinolonas y que este mecanismo de resistencia estaría mediado por la inducción de la expresión de proteínas de choque térmico. Evidencias de la implicación de proteínas de choque térmico en la resistencia a quinolonas se habían obtenido previamente. Inhibidores de DnaK (Credito y col., 2009) o mutaciones en *dnaK*, *groEL* y *lon* (Yamaguchi y col., 2003) aumentaron la sensibilidad de la bacteria a fluoroquinolonas, por lo que estas proteínas de respuesta a choque térmico están involucradas en un mecanismo de resistencia intrínseca a las quinolonas. En nuestros experimentos de inducción de choque térmico y estimulación de resistencia a ácido nalidíxico, utilizamos este antibiótico a una concentración del doble de la CMI. El bloqueo de las horquillas de replicación por las quinolonas a una concentración el doble de la CMI puede estimular eventos secundarios que matan las células lentamente y cuyo mecanismo no se conoce en detalle (Drlica y col., 2008). La bacteria para enfrentarse a los efectos de la droga puede desencadenar redes de respuesta para promover la supervivencia y el desarrollo de resistencia. Las proteínas de respuesta a choque térmico podrían estar involucradas en estos pasos. También se ha visto que la letalidad producida por algunas quinolonas, incluyendo ácido nalidíxico, es drásticamente reducida en presencia de cloranfenicol (Chen y col., 1996) y rifampicina (Lewin y col., 1991), antibióticos que inhiben la transcripción y la traducción de proteínas respectivamente, demostrando que la muerte celular por quinolonas es dependiente de la síntesis proteica. Aunque lo más posible es que este efecto se deba a que las quinolonas sólo son letales sobre células creciendo activamente, cabe la posibilidad de que una parte de su acción transcurra a través de una proteína implicada en dicha letalidad. Las chaperonas podrían tener algún efecto sobre este factor proteico necesario para la inducción de muerte celular ocasionada por las quinolonas.

5.4. ¿La inactivación de la RNasa G y de la AAA-ATPasa forman parte del mismo mecanismo de resistencia?

Nuestros resultados indican que la mutación de genes diferentes, una RNasa y una AAA-ATPasa, inducen la sobreexpresión de genes de respuesta a choque térmico y

la resistencia a quinolonas y fosfomicina. Estos genes son los responsables del fenotipo de baja sensibilidad. De manera inversa, cualquier gen o mutación que induzca estos genes podría favorecer un aumento de sensibilidad a antibióticos sobre todo a quinolonas. Las quinolonas y la fosfomicina tienen mecanismos de acción muy distintos. La fosfomicina inhibe la síntesis de la pared microbiana inactivando la enzima clave de la síntesis de la misma, MurA, uniéndose irreversiblemente; y las quinolonas afectan la replicación del ADN. Sin embargo, el mutante G3.F1.5 confiere una resistencia mucho mayor a la fosfomicina que el mutante FSV46. Además, a pesar de que ambos mutantes tienen sobreexpresadas las proteínas de respuesta a choque térmico los cambios en transcriptomas de los dos mutantes en comparación con la parental silvestre, no son completamente iguales; otros genes se encuentran desigualmente alterados en cada mutante. Los genes del sistema de transporte EmrAB se encuentran sobreexpresados en el mutante FSV46, y no en el mutante G3.F1.5, y estos genes no se sobreexpresan al someter la cepa FSV46 a un choque térmico, por lo que estos genes pueden estar relacionados con el mecanismo de resistencia de FSV46 y no de G3.F1.5, independiente del choque térmico. Es posible que estas diferencias representen puntos donde los mecanismos de resistencia a quinolonas y fosfomicina difieran entre ambos mutantes para conferir distintos niveles de resistencia a estos antibióticos.

A su vez, cabría esperar que el gen codificante de la AAA-ATPasa se encuentre reprimido en el mutante FSV46 y el gen codificante de la RNasa G se encuentre reprimido en el mutante G3.F1.5. No se obtuvo este resultado, de modo que o bien estos mecanismos no están relacionados o bien son sistemas independientes que conllevan a los mismos mecanismos de resistencia.

Finalmente, la adquisición de resistencia a los antibióticos puede estar asociada a una pérdida en la eficacia biológica de los organismos resistentes (Andersson y Levin, 1999; Yim y *col.*, 2006). Una distinción entre los mecanismos de resistencia de los mutantes estudiados en este trabajo es que la adquisición de resistencia debida a la mutación de la AAA-ATPasa conlleva un coste biológico, mientras que la mutación en la RNasa G no involucra una pérdida en la eficacia biológica.

En base a los resultados obtenidos en esta tesis es probable que los mutantes presenten distintos mecanismos de resistencia con elementos en común, como la

sobreexpresión de proteínas de choque térmico. Una profundización en el estudio de estos mecanismos haría posible describirlos en detalle y establecer los pasos compartidos y los exclusivos de cada mutante.

CONCLUSIONES

6. Conclusiones

1. La mutación de la RNasa G hace que *S. maltophilia* sea resistente a quinolonas y a fosfomicina. La mutación de una AAA-ATPasa hace que *S. maltophilia* sea resistente a quinolonas y a fosfomicina
2. El efecto de la RNasa G en la sensibilidad a quinolonas es específico de *S. maltophilia*, dado que la inactivación de la RNasa G en *P. aeruginosa* no produce un fenotipo de sensibilidad a antibióticos diferente al de la cepa silvestre de *P. aeruginosa*.
3. La inactivación de la RNasa G de *S. maltophilia* provoca la sobreexpresión de los genes de proteínas de respuesta a choque térmico y del sistema de expulsión múltiple de drogas EmrAB. Al igual que ocurre para la RNasa G, la inactivación de la AAA-ATPasa de *S. maltophilia* también provoca la sobreexpresión de los genes de proteínas de respuesta a choque térmico, demostrando que los mecanismos de resistencia de ambos mutantes pueden estar relacionados.
4. La inducción de un choque térmico en la cepa silvestre de *S. maltophilia* induce resistencia a ácido nalidíxico, sobreexpresión de los genes de las proteínas de choque térmico y expresión en menor nivel del gen de la RNasa G.
5. La sobreexpresión de la RNasa G en *S. maltophilia* hace a la cepa silvestre más sensible a ácido nalidíxico.
6. La inactivación de la RNasa G no tiene un coste de fitness para *S. maltophilia*, sin embargo la inactivación de la AAA-ATPasa tiene coste de fitness en medio MH.
7. La inactivación de la AAA-ATPasa disminuye la motilidad tipo swimming, pero no modifica la respuesta a estrés oxidativo de *S. maltophilia*.

8. El mecanismo de resistencia a fosfomicina del mutante deficiente en la AAA-ATPasa no se relaciona con una deficiencia en la entrada de dicho antibiótico.
9. Los ARNs de *S. maltophilia* tienen tiempos de vida media que oscilan entre 1,5 y 600 minutos, y la mayoría de los ARN se degradan en menos de 5 minutos.
10. La inactivación de la RNasa G aumenta el tiempo en que muchos ARN se degradan, en particular los de los tRNAs, siendo éstos posibles dianas de la RNasa G.

BIBLIOGRAFÍA

7. Bibliografía

- Alekshun, M.N. y Levy, S.B.** (1999). The mar regulon: multiple resistance to antibiotics and other toxic chemicals. *Trends Microbiol* **7**: 410-413.
- Alonso, A. y Martinez, J.L.** (1997). Multiple antibiotic resistance in *Stenotrophomonas maltophilia*. *Antimicrob Agents Chemother* **41**: 1140-1142.
- Alonso, A. y Martinez, J.L.** (2000). Cloning and characterization of SmeDEF, a novel multidrug efflux pump from *Stenotrophomonas maltophilia*. *Antimicrob Agents Chemother* **44**: 3079-3086.
- Alonso, A. y Martinez, J.L.** (2001). Expression of multidrug efflux pump SmeDEF by clinical isolates of *Stenotrophomonas maltophilia*. *Antimicrob Agents Chemother* **45**: 1879-1881.
- Alonso, A., Sanchez, P. y Martinez, J.L.** (2000). *Stenotrophomonas maltophilia* D457R contains a cluster of genes from gram-positive bacteria involved in antibiotic and heavy metal resistance. *Antimicrob Agents Chemother* **44**: 1778-1782.
- Altschul, S.F., Madden, T.L., Schaffer, A.A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W. y Lipman, D.J.** (1997). Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res* **25**: 3389-3402.
- Alvarez-Ortega, C., Wiegand, I., Olivares, J., Hancock, R.E. y Martinez, J.L.** (2010). Genetic determinants involved in the susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* to beta-lactam antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother* **54**: 4159-4167.
- Andersson, D.I.** (2006). The biological cost of mutational antibiotic resistance: any practical conclusions? *Curr Opin Microbiol* **9**: 461-465.
- Andersson, D.I. y Hughes, D.** (2010). Antibiotic resistance and its cost: is it possible to reverse resistance? *Nat Rev Microbiol* **8**: 260-271.
- Andersson, D.I. y Levin, B.R.** (1999). The biological cost of antibiotic resistance. *Curr Opin Microbiol* **2**: 489-493.
- Andrade, J.M. y Arraiano, C.M.** (2008). PNPase is a key player in the regulation of small RNAs that control the expression of outer membrane proteins. *RNA* **14**: 543-551.
- Arraiano, C.M., Andrade, J.M., Domingues, S., Guinote, I.B., Malecki, M., Matos, R.G., Moreira, R.N., Pobre, V., Reis, F.P., Saramago, M., Silva, I.J. y Viegas, S.C.** (2010). The critical role of RNA processing and degradation in the control of gene expression. *FEMS Microbiol Rev* **34**: 883-923.
- Atlas, R.M.** (1993). Handbook of Microbiological Media (Boca Raton, FL: CRC Press).
- Avison, M.B., Higgins, C.S., Ford, P.J., von Heldreich, C.J., Walsh, T.R. y Bennett, P.M.** (2002). Differential regulation of L1 and L2 beta-lactamase expression in *Stenotrophomonas maltophilia*. *J Antimicrob Chemother* **49**: 387-389.
- Balsalobre, L. y de la Campa, A.G.** (2008). Fitness of *Streptococcus pneumoniae* fluoroquinolone-resistant strains with topoisomerase IV recombinant genes. *Antimicrob Agents Chemother* **52**: 822-830.
- Belland, R.J., Morrison, S.G., Ison, C. y Huang, W.M.** (1994). *Neisseria gonorrhoeae* acquires mutations in analogous regions of *gyrA* and *parC* in fluoroquinolone-resistant isolates. *Mol Microbiol* **14**: 371-380.
- Beyer, A.** (1997). Sequence analysis of the AAA protein family. *Protein Sci* **6**: 2043-2058.

- Blanche, F., Cameron, B., Bernard, F.X., Maton, L., Manse, B., Ferrero, L., Ratet, N., Lecoq, C., Goniot, A., Bisch, D. y Crouzet, J. (1996). Differential behaviors of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* type II DNA topoisomerases. *Antimicrob Agents Chemother* **40**: 2714-2720.
- Boethling, R.S. (1975). Regulation of extracellular protease secretion in *Pseudomonas maltophilia*. *J Bacteriol* **123**: 954-961.
- Brazas, M.D. y Hancock, R.E. (2005). Using microarray gene signatures to elucidate mechanisms of antibiotic action and resistance. *Drug Discov Today* **10**: 1245-1252.
- Breidenstein, E.B., Khaira, B.K., Wiegand, I., Overhage, J. y Hancock, R.E. (2008). Complex ciprofloxacin resistome revealed by screening a *Pseudomonas aeruginosa* mutant library for altered susceptibility. *Antimicrob Agents Chemother* **52**: 4486-4491.
- Briant, D.J., Hankins, J.S., Cook, M.A. y Mackie, G.A. (2003). The quaternary structure of RNase G from *Escherichia coli*. *Mol Microbiol* **50**: 1381-1390.
- Cardoso, K., Gandra, R.F., Wisniewski, E.S., Osaku, C.A., Kadowaki, M.K., Felipach-Neto, V., Haus, L.F. y Simao Rde, C. (2010). DnaK and GroEL are induced in response to antibiotic and heat shock in *Acinetobacter baumannii*. *J Med Microbiol* **59**: 1061-1068.
- Carpousis, A.J. (2002). The *Escherichia coli* RNA degradosome: structure, function and relationship in other ribonucleolytic multienzyme complexes. *Biochem Soc Trans* **30**: 150-155.
- Carpousis, A.J. (2007). The RNA degradosome of *Escherichia coli*: an mRNA-degrading machine assembled on RNase E. *Annu Rev Microbiol* **61**: 71-87.
- Castaneda-Garcia, A., Rodriguez-Rojas, A., Guelfo, J.R. y Blazquez, J. (2009). The glycerol-3-phosphate permease GlpT is the only fosfomycin transporter in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol* **191**: 6968-6974.
- Castañeda-García, A., Blázquez, J. y Rodríguez-Rojas (2013). Molecular Mechanisms and Clinical Impact of Acquired and Intrinsic Fosfomycin Resistance. *Antibiotics* **2**: 217-236.
- Cattoir, V., Poirel, L., Mazel, D., Soussy, C.J. y Nordmann, P. (2007). *Vibrio splendidus* as the source of plasmid-mediated QnrS-like quinolone resistance determinants. *Antimicrob Agents Chemother* **51**: 2650-2651.
- Celesnik, H., Deana, A. y Belasco, J.G. (2007). Initiation of RNA decay in *Escherichia coli* by 5' pyrophosphate removal. *Mol Cell* **27**: 79-90.
- Chang, Y.C., Tsai, M.J., Huang, Y.W., Chung, T.C. y Yang, T.C. (2011). SmQnrR, a DeoR-type transcriptional regulator, negatively regulates the expression of Smqnr and SmtcrA in *Stenotrophomonas maltophilia*. *J Antimicrob Chemother* **66**: 1024-1028.
- Chen, C.H., Huang, C.C., Chung, T.C., Hu, R.M., Huang, Y.W. y Yang, T.C. (2011). Contribution of resistance-nodulation-division efflux pump operon smeU1-V-W-U2-X to multidrug resistance of *Stenotrophomonas maltophilia*. *Antimicrob Agents Chemother* **55**: 5826-5833.
- Chen, C.R., Malik, M., Snyder, M. y Drlica, K. (1996). DNA gyrase and topoisomerase IV on the bacterial chromosome: quinolone-induced DNA cleavage. *J Mol Biol* **258**: 627-637.

- Cheng, G., Hao, H., Dai, M., Liu, Z. y Yuan, Z.** (2013). Antibacterial action of quinolones: from target to network. *Eur J Med Chem* **66**: 555-562.
- Cheng, Z.F. y Deutscher, M.P.** (2005). An important role for RNase R in mRNA decay. *Mol Cell* **17**: 313-318.
- Cheng, Z.F., Zuo, Y., Li, Z., Rudd, K.E. y Deutscher, M.P.** (1998). The *vacB* gene required for virulence in *Shigella flexneri* and *Escherichia coli* encodes the exoribonuclease RNase R. *J Biol Chem* **273**: 14077-14080.
- Chung, D.H., Min, Z., Wang, B.C. y Kushner, S.R.** (2010). Single amino acid changes in the predicted RNase H domain of *Escherichia coli* RNase G lead to complementation of RNase E deletion mutants. *RNA* **16**: 1371-1385.
- Credito, K., Lin, G., Koeth, L., Sturgess, M.A. y Appelbaum, P.C.** (2009). Activity of levofloxacin alone and in combination with a DnaK inhibitor against gram-negative rods, including levofloxacin-resistant strains. *Antimicrob Agents Chemother* **53**: 814-817.
- Crossman, L.C., Gould, V.C., Dow, J.M., Vernikos, G.S., Okazaki, A., Sebahia, M., Saunders, D., Arrowsmith, C., Carver, T., Peters, N., Adlem, E., Kerhornou, A., Lord, A., Murphy, L., Seeger, K., Squares, R., Rutter, S., Quail, M.A., Rajandream, M.A., Harris, D., Churcher, C., Bentley, S.D., Parkhill, J., Thomson, N.R. y Avison, M.B.** (2008). The complete genome, comparative and functional analysis of *Stenotrophomonas maltophilia* reveals an organism heavily shielded by drug resistance determinants. *Genome Biol* **9**: R74.
- Davey, M.J., Jeruzalmi, D., Kuriyan, J. y O'Donnell, M.** (2002). Motors and switches: AAA+ machines within the replisome. *Nat Rev Mol Cell Biol* **3**: 826-835.
- De Carolis, E., Posteraro, B., Florio, A.R., Colonna, B., Prosseda, G., Bugli, F., Lorenzetti, S.R., Fiscarelli, E., Inzitari, R., Iavarone, F., Castagnola, M., Fadda, G. y Sanguinetti, M.** (2011). Analysis of heat-induced changes in protein expression of *Stenotrophomonas maltophilia* K279a reveals a role for GroEL in the host-temperature adaptation. *Int J Med Microbiol* **301**: 273-281.
- de Lorenzo, V., Eltis, L., Kessler, B. y Timmis, K.N.** (1993). Analysis of *Pseudomonas* gene products using *lacIq*/*P_{trp}*-*lac* plasmids and transposons that confer conditional phenotypes. *Gene* **123**: 17-24.
- de Lorenzo, V., Herrero, M., Jakubzik, U. y Timmis, K.N.** (1990). Mini-Tn5 transposon derivatives for insertion mutagenesis, promoter probing, and chromosomal insertion of cloned DNA in gram-negative eubacteria. *J Bacteriol* **172**: 6568-6572.
- de Lorenzo, V. y Timmis, K.N.** (1994). Analysis and construction of stable phenotypes in gram-negative bacteria with Tn5- and Tn10-derived minitransposons. *Methods Enzymol* **235**: 386-405.
- de Oliveira-Garcia, D., Dall'Agnol, M., Rosales, M., Azzuz, A.C., Alcantara, N., Martinez, M.B. y Giron, J.A.** (2003). Fimbriae and adherence of *Stenotrophomonas maltophilia* to epithelial cells and to abiotic surfaces. *Cell Microbiol* **5**: 625-636.
- de Vrankrijker, A.M., Wolfs, T.F. y van der Ent, C.K.** (2010). Challenging and emerging pathogens in cystic fibrosis. *Paediatr Respir Rev* **11**: 246-254.
- Deitz, W.H., Bailey, J.H. y Froelich, E.J.** (1963). In Vitro Antibacterial Properties of Nalidixic Acid, a New Drug Active against Gram-Negative Organisms. *Antimicrob Agents Chemother (Bethesda)* **161**: 583-587.

- Denton, M. y Kerr, K.G. (1998). Microbiological and clinical aspects of infection associated with *Stenotrophomonas maltophilia*. *Clin Microbiol Rev* **11**: 57-80.
- Di Bonaventura, G., Spedicato, I., D'Antonio, D., Robuffo, I. y Piccolomini, R. (2004). Biofilm formation by *Stenotrophomonas maltophilia*: modulation by quinolones, trimethoprim-sulfamethoxazole, and ceftazidime. *Antimicrob Agents Chemother* **48**: 151-160.
- Dib, J., Motok, J., Zenoff, V.F., Ordonez, O. y Farias, M.E. (2008). Occurrence of resistance to antibiotics, UV-B, and arsenic in bacteria isolated from extreme environments in high-altitude (above 4400 m) Andean wetlands. *Curr Microbiol* **56**: 510-517.
- Draker, K.A., Boehr, D.D., Elowe, N.H., Noga, T.J. y Wright, G.D. (2003). Functional annotation of putative aminoglycoside antibiotic modifying proteins in *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. *J Antibiot (Tokyo)* **56**: 135-142.
- Drider, D. y Condon, C. (2004). The continuing story of endoribonuclease III. *J Mol Microbiol Biotechnol* **8**: 195-200.
- Drlica, K., Malik, M., Kerns, R.J. y Zhao, X. (2008). Quinolone-mediated bacterial death. *Antimicrob Agents Chemother* **52**: 385-392.
- Eidem, T.M., Roux, C.M. y Dunman, P.M. (2012). RNA decay: a novel therapeutic target in bacteria. *Wiley Interdiscip Rev RNA* **3**: 443-454.
- Eisen, M.B., Spellman, P.T., Brown, P.O. y Botstein, D. (1998). Cluster analysis and display of genome-wide expression patterns. *Proc Natl Acad Sci U S A* **95**: 14863-14868.
- Fajardo, A., Martinez-Martin, N., Mercadillo, M., Galan, J.C., Ghysels, B., Matthijs, S., Cornelis, P., Wiehlmann, L., Tummeler, B., Baquero, F. y Martinez, J.L. (2008). The neglected intrinsic resistome of bacterial pathogens. *PLoS One* **3**: e1619.
- Fernandez, L., Alvarez-Ortega, C., Wiegand, I., Olivares, J., Kocincova, D., Lam, J.S., Martinez, J.L. y Hancock, R.E. (2013). Characterization of the polymyxin B resistome of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* **57**: 110-119.
- Fernandez, L. y Hancock, R.E. (2012). Adaptive and mutational resistance: role of porins and efflux pumps in drug resistance. *Clin Microbiol Rev* **25**: 661-681.
- Figurski, D.H. y Helinski, D.R. (1979). Replication of an origin-containing derivative of plasmid RK2 dependent on a plasmid function provided in trans. *Proc Natl Acad Sci U S A* **76**: 1648-1652.
- Fonseca, P., Moreno, R. y Rojo, F. (2008). Genomic analysis of the role of RNase R in the turnover of *Pseudomonas putida* mRNAs. *J Bacteriol* **190**: 6258-6263.
- Fukuoka, T., Masuda, N., Takenouchi, T., Sekine, N., Iijima, M. y Ohya, S. (1991). Increase in susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* to carbapenem antibiotics in low-amino-acid media. *Antimicrob Agents Chemother* **35**: 529-532.
- Garcia-Leon, G., Salgado, F., Oliveros, J.C., Sanchez, M.B. y Martinez, J.L. (2014). Interplay between intrinsic and acquired resistance to quinolones in *Stenotrophomonas maltophilia*. *Environ Microbiol*.
- Garcia-Leon, G., Sanchez, M.B. y Martinez, J.L. (2012). The Inactivation of intrinsic antibiotic resistance determinants widens the mutant selection window for quinolones in *Stenotrophomonas maltophilia*. *Antimicrob Agents Chemother* **56**: 6397-6399.

- Girgis, H.S., Hottes, A.K. y Tavazoie, S. (2009). Genetic architecture of intrinsic antibiotic susceptibility. *PLoS One* **4**: e5629.
- Gmuender, H., Kuratli, K., Di Padova, K., Gray, C.P., Keck, W. y Evers, S. (2001). Gene expression changes triggered by exposure of *Haemophilus influenzae* to novobiocin or ciprofloxacin: combined transcription and translation analysis. *Genome Res* **11**: 28-42.
- Goh, E.B., Yim, G., Tsui, W., McClure, J., Surette, M.G. y Davies, J. (2002). Transcriptional modulation of bacterial gene expression by subinhibitory concentrations of antibiotics. *Proc Natl Acad Sci U S A* **99**: 17025-17030.
- Gould, V.C., Okazaki, A. y Avison, M.B. (2013). Coordinate hyperproduction of SmeZ and SmeJK efflux pumps extends drug resistance in *Stenotrophomonas maltophilia*. *Antimicrob Agents Chemother* **57**: 655-657.
- Groll, M., Bochtler, M., Brandstetter, H., Clausen, T. y Huber, R. (2005). Molecular machines for protein degradation. *ChemBiochem* **6**: 222-256.
- Harris, N.B. y Rogers, D.G. (2001). Septicemia associated with *Stenotrophomonas maltophilia* in a West African dwarf crocodile (*Osteolaemus tetraspis* subsp. *tetraspis*). *J Vet Diagn Invest* **13**: 255-258.
- Harrison, C. (2003). GrpE, a nucleotide exchange factor for DnaK. *Cell Stress Chaperones* **8**: 218-224.
- Heisig, P. (1996). Genetic evidence for a role of parC mutations in development of high-level fluoroquinolone resistance in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* **40**: 879-885.
- Hejnar, P., Bardon, J., Sauer, P. y Kolar, M. (2007). *Stenotrophomonas maltophilia* as a part of normal oral bacterial flora in captive snakes and its susceptibility to antibiotics. *Vet Microbiol* **121**: 357-362.
- Hernandez, A., Ruiz, F.M., Romero, A. y Martinez, J.L. (2011). The binding of triclosan to SmeT, the repressor of the multidrug efflux pump SmeDEF, induces antibiotic resistance in *Stenotrophomonas maltophilia*. *PLoS Pathog* **7**: e1002103.
- Herrero, M., de Lorenzo, V. y Timmis, K.N. (1990). Transposon vectors containing non-antibiotic resistance selection markers for cloning and stable chromosomal insertion of foreign genes in gram-negative bacteria. *J Bacteriol* **172**: 6557-6567.
- Hillen, W. y Berens, C. (1994). Mechanisms underlying expression of Tn10 encoded tetracycline resistance. *Annu Rev Microbiol* **48**: 345-369.
- Hopkins, K.L., Davies, R.H. y Threlfall, E.J. (2005). Mechanisms of quinolone resistance in *Escherichia coli* and *Salmonella*: recent developments. *Int J Antimicrob Agents* **25**: 358-373.
- Hugh, R. y Ryschenkow, E. (1961). *Pseudomonas maltophilia*, an alcaligenes-like species. *J Gen Microbiol* **26**: 123-132.
- Hughes, D. y Andersson, D.I. (2012). Selection of resistance at lethal and non-lethal antibiotic concentrations. *Curr Opin Microbiol* **15**: 555-560.
- Ito, R. y Ohnishi, Y. (1983). The roles of RNA polymerase and RNAase I in stable RNA degradation in *Escherichia coli* carrying the *srnB+* gene. *Biochim Biophys Acta* **739**: 27-34.
- Izumiya, H., Sekizuka, T., Nakaya, H., Taguchi, M., Oguchi, A., Ichikawa, N., Nishiko, R., Yamazaki, S., Fujita, N., Watanabe, H., Ohnishi, M. y Kuroda, M. (2011). Whole-genome analysis of *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* T000240

- reveals the acquisition of a genomic island involved in multidrug resistance via IS1 derivatives on the chromosome. *Antimicrob Agents Chemother* **55**: 623-630.
- Jacoby, G.A., Griffin, C.M. y Hooper, D.C.** (2011). *Citrobacter* spp. as a source of qnrB Alleles. *Antimicrob Agents Chemother* **55**: 4979-4984.
- Jakobi, M., Winkelmann, G., Kaiser, D., Kempter, C., Jung, G., Berg, G. y Bahl, H.** (1996). Maltophilin: a new antifungal compound produced by *Stenotrophomonas maltophilia* R3089. *J Antibiot (Tokyo)* **49**: 1101-1104.
- Kaga, N., Umitsuki, G., Nagai, K. y Wachi, M.** (2002). RNase G-dependent degradation of the eno mRNA encoding a glycolysis enzyme enolase in *Escherichia coli*. *Biosci Biotechnol Biochem* **66**: 2216-2220.
- Kato, J., Suzuki, H. y Ikeda, H.** (1992). Purification and characterization of DNA topoisomerase IV in *Escherichia coli*. *J Biol Chem* **267**: 25676-25684.
- Khodursky, A.B., Zechiedrich, E.L. y Cozzarelli, N.R.** (1995). Topoisomerase IV is a target of quinolones in *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci U S A* **92**: 11801-11805.
- Kindrachuk, K.N., Fernandez, L., Bains, M. y Hancock, R.E.** (2011). Involvement of an ATP-dependent protease, PA0779/AsrA, in inducing heat shock in response to tobramycin in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* **55**: 1874-1882.
- Kobori, H., Sullivan, C.W. y Shizuya, H.** (1984). Bacterial plasmids in antarctic natural microbial assemblages. *Appl Environ Microbiol* **48**: 515-518.
- Kohanski, M.A., Dwyer, D.J., Wierzbowski, J., Cottarel, G. y Collins, J.J.** (2008). Mistranslation of membrane proteins and two-component system activation trigger antibiotic-mediated cell death. *Cell* **135**: 679-690.
- Krueger, J.H. y Walker, G.C.** (1984). groEL and dnaK genes of *Escherichia coli* are induced by UV irradiation and nalidixic acid in an htpR+-dependent fashion. *Proc Natl Acad Sci U S A* **81**: 1499-1503.
- Kushner, S.R.** (2004). mRNA decay in prokaryotes and eukaryotes: different approaches to a similar problem. *IUBMB Life* **56**: 585-594.
- Kuzuyama, T., Kobayashi, S., O'Hara, K., Hidaka, T. y Seto, H.** (1996). Fosfomycin monophosphate and fosfomycin diphosphate, two inactivated fosfomycin derivatives formed by gene products of fomA and fomB from a fosfomycin producing organism *Streptomyces wedmorensis*. *J Antibiot (Tokyo)* **49**: 502-504.
- Laemmli, U.K., Beguin, F. y Gujer-Kellenberger, G.** (1970). A factor preventing the major head protein of bacteriophage T4 from random aggregation. *J Mol Biol* **47**: 69-85.
- Larkin, M.A., Blackshields, G., Brown, N.P., Chenna, R., McGettigan, P.A., McWilliam, H., Valentin, F., Wallace, I.M., Wilm, A., Lopez, R., Thompson, J.D., Gibson, T.J. y Higgins, D.G.** (2007). Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics* **23**: 2947-2948.
- Lee, K., Bernstein, J.A. y Cohen, S.N.** (2002). RNase G complementation of rne null mutation identifies functional interrelationships with RNase E in *Escherichia coli*. *Mol Microbiol* **43**: 1445-1456.
- Leroy, A., Vanzo, N.F., Sousa, S., Dreyfus, M. y Carpousis, A.J.** (2002). Function in *Escherichia coli* of the non-catalytic part of RNase E: role in the degradation of ribosome-free mRNA. *Mol Microbiol* **45**: 1231-1243.
- Levy, S.B.** (1994). Balancing the drug-resistance equation. *Trends Microbiol* **2**: 341-342.

- Levy, S.B. y Marshall, B. (2004). Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. *Nat Med* **10**: S122-129.
- Lewin, C.S., Howard, B.M. y Smith, J.T. (1991). Protein- and RNA-synthesis independent bactericidal activity of ciprofloxacin that involves the A subunit of DNA gyrase. *J Med Microbiol* **34**: 19-22.
- Li, X.Z., Livermore, D.M. y Nikaido, H. (1994). Role of efflux pump(s) in intrinsic resistance of *Pseudomonas aeruginosa*: resistance to tetracycline, chloramphenicol, and norfloxacin. *Antimicrob Agents Chemother* **38**: 1732-1741.
- Li, X.Z., Zhang, L., McKay, G.A. y Poole, K. (2003). Role of the acetyltransferase AAC(6')-Iz modifying enzyme in aminoglycoside resistance in *Stenotrophomonas maltophilia*. *J Antimicrob Chemother* **51**: 803-811.
- Li, X.Z., Zhang, L. y Poole, K. (2002). SmeC, an outer membrane multidrug efflux protein of *Stenotrophomonas maltophilia*. *Antimicrob Agents Chemother* **46**: 333-343.
- Liberati, N.T., Urbach, J.M., Miyata, S., Lee, D.G., Drenkard, E., Wu, G., Villanueva, J., Wei, T. y Ausubel, F.M. (2006). An ordered, nonredundant library of *Pseudomonas aeruginosa* strain PA14 transposon insertion mutants. *Proc Natl Acad Sci U S A* **103**: 2833-2838.
- Lin, Z. y Rye, H.S. (2006). GroEL-mediated protein folding: making the impossible, possible. *Crit Rev Biochem Mol Biol* **41**: 211-239.
- Linares, J.F., Gustafsson, I., Baquero, F. y Martinez, J.L. (2006). Antibiotics as intermicrobial signaling agents instead of weapons. *Proc Natl Acad Sci U S A* **103**: 19484-19489.
- Lira, F., Hernandez, A., Belda, E., Sanchez, M.B., Moya, A., Silva, F.J. y Martinez, J.L. (2012). Whole-genome sequence of *Stenotrophomonas maltophilia* D457, a clinical isolate and a model strain. *J Bacteriol* **194**: 3563-3564.
- Liu, A., Tran, L., Becket, E., Lee, K., Chinn, L., Park, E., Tran, K. y Miller, J.H. (2010). Antibiotic sensitivity profiles determined with an *Escherichia coli* gene knockout collection: generating an antibiotic bar code. *Antimicrob Agents Chemother* **54**: 1393-1403.
- Livak, K.J. y Schmittgen, T.D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻(Delta Delta C(T)) Method. *Methods* **25**: 402-408.
- Lucas, S., Copeland, A., Lapidus, A., Glavina del Rio, T., Dalin, E., Tice, H., Pitluck, S., Chain, P., Malfatt, S., Shin, M., Vergez, L., Lang, D., Schmutz, J., Larimer, F., Land, M., Hauser, L., Kyrpides, N., Mikhailova, N., Taghavi, S., Monchy, S., Newman, L., Vangronsveld, J., van der Lelie, D., Richardson, P. y databases., E.G.D. (2008). Complete sequence of *Stenotrophomonas maltophilia* R551-3. *EMBL/GenBank/DDBJ databases*.
- Lucas, S., Han, J., Lapidus, A., Cheng, J.F., Goodwin, L., Pitluck, S., Peters, L., Ovchinnikova, G., Teshima, H., Detter, J.C., Han, C., Tapia, R., Land, M., Hauser, L., Kyrpides, N., Ivanova, N., Pagani, I., Medau, R., Furlan, B., Mui Tsai, S., Rodriques, J., Tiedje, J. y Woyke, T. (2011). Complete sequence of *Burkholderia* sp. JV3. *EMBL/GenBank/DDBJ databases*.
- Lund, P.A. (2001). Microbial molecular chaperones. *Adv Microb Physiol* **44**: 93-140.

- Mader, U., Zig, L., Kretschmer, J., Homuth, G. y Putzer, H.** (2008). mRNA processing by RNases J1 and J2 affects *Bacillus subtilis* gene expression on a global scale. *Mol Microbiol* **70**: 183-196.
- Marshall, B.M., Robleto, E., Dumont, T. y Levy, S.B.** (2012). The frequency of antibiotic-resistant bacteria in homes differing in their use of surface antibacterial agents. *Curr Microbiol* **65**: 407-415.
- Martinez, J.L.** (2008). Antibiotics and antibiotic resistance genes in natural environments. *Science* **321**: 365-367.
- Martinez, J.L.** (2009). Environmental pollution by antibiotics and by antibiotic resistance determinants. *Environ Pollut* **157**: 2893-2902.
- Martinez, J.L.** (2012). The antibiotic resistome: challenge and opportunity for therapeutic intervention. *Future Med Chem* **4**: 347-359.
- Martinez, J.L. y Baquero, F.** (2000). Mutation frequencies and antibiotic resistance. *Antimicrob Agents Chemother* **44**: 1771-1777.
- Martinez, J.L., Fajardo, A., Garmendia, L., Hernandez, A., Linares, J.F., Martinez-Solano, L. y Sanchez, M.B.** (2009). A global view of antibiotic resistance. *FEMS Microbiol Rev* **33**: 44-65.
- Martinez-Martinez, L., Pascual, A. y Jacoby, G.A.** (1998). Quinolone resistance from a transferable plasmid. *Lancet* **351**: 797-799.
- McClure, R., Balasubramanian, D., Sun, Y., Bobrovskyy, M., Sumby, P., Genco, C.A., Vanderpool, C.K. y Tjaden, B.** (2013). Computational analysis of bacterial RNA-Seq data. *Nucleic Acids Res* **41**: e140.
- McKay, G.A., Woods, D.E., MacDonald, K.L. y Poole, K.** (2003). Role of phosphoglucosyltransferase of *Stenotrophomonas maltophilia* in lipopolysaccharide biosynthesis, virulence, and antibiotic resistance. *Infect Immun* **71**: 3068-3075.
- Mett, H., Rosta, S., Schacher, B. y Frei, R.** (1988). Outer membrane permeability and beta-lactamase content in *Pseudomonas maltophilia* clinical isolates and laboratory mutants. *Rev Infect Dis* **10**: 765-769.
- Mizushima, T., Matsuo, M. y Sekimizu, K.** (1997). Induction of DnaK and GroEL heat shock proteins by fluoroquinolones in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* **41**: 193-195.
- Mogk, A., Haslberger, T., Tessarz, P. y Bukau, B.** (2008). Common and specific mechanisms of AAA+ proteins involved in protein quality control. *Biochem Soc Trans* **36**: 120-125.
- Mogk, A., Tomoyasu, T., Goloubinoff, P., Rudiger, S., Roder, D., Langen, H. y Bukau, B.** (1999). Identification of thermolabile *Escherichia coli* proteins: prevention and reversion of aggregation by DnaK and ClpB. *EMBO J* **18**: 6934-6949.
- Mohanty, B.K. y Kushner, S.R.** (2008). Rho-independent transcription terminators inhibit RNase P processing of the secG leuU and metT tRNA polycistronic transcripts in *Escherichia coli*. *Nucleic Acids Res* **36**: 364-375.
- Morens, D.M., Folkers, G.K. y Fauci, A.S.** (2004). The challenge of emerging and re-emerging infectious diseases. *Nature* **430**: 242-249.
- Morimoto, R.I., Kroeger, P.E. y Cotto, J.J.** (1996). The transcriptional regulation of heat shock genes: a plethora of heat shock factors and regulatory conditions. *EXS* **77**: 139-163.

- Morrison, A.J., Jr., Hoffmann, K.K. y Wenzel, R.P.** (1986). Associated mortality and clinical characteristics of nosocomial *Pseudomonas maltophilia* in a university hospital. *J Clin Microbiol* **24**: 52-55.
- Mortazavi, A., Williams, B.A., McCue, K., Schaeffer, L. y Wold, B.** (2008). Mapping and quantifying mammalian transcriptomes by RNA-Seq. *Nat Methods* **5**: 621-628.
- Murakami, K., Ono, T., Viducic, D., Kayama, S., Mori, M., Hirota, K., Nemoto, K. y Miyake, Y.** (2005). Role for rpoS gene of *Pseudomonas aeruginosa* in antibiotic tolerance. *FEMS Microbiol Lett* **242**: 161-167.
- Neuwald, A.F., Aravind, L., Spouge, J.L. y Koonin, E.V.** (1999). AAA+: A class of chaperone-like ATPases associated with the assembly, operation, and disassembly of protein complexes. *Genome Res* **9**: 27-43.
- Nicodemo, A.C., Araujo, M.R., Ruiz, A.S. y Gales, A.C.** (2004). In vitro susceptibility of *Stenotrophomonas maltophilia* isolates: comparison of disc diffusion, Etest and agar dilution methods. *J Antimicrob Chemother* **53**: 604-608.
- Nicodemo, A.C. y Paez, J.I.** (2007). Antimicrobial therapy for *Stenotrophomonas maltophilia* infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **26**: 229-237.
- Nikaido, H.** (1989). Outer membrane barrier as a mechanism of antimicrobial resistance. *Antimicrob Agents Chemother* **33**: 1831-1836.
- Nikaido, H.** (1994). Prevention of drug access to bacterial targets: permeability barriers and active efflux. *Science* **264**: 382-388.
- Ogura, T. y Wilkinson, A.J.** (2001). AAA+ superfamily ATPases: common structure--diverse function. *Genes Cells* **6**: 575-597.
- Ohno, H., Koga, H. y Kohno, S.** (1998). [Multidrug-resistant tuberculosis. 2. Mechanisms of drug-resistance in Mycobacterium tuberculosis--genetic mechanisms of drug-resistance]. *Kekkaku* **73**: 657-663.
- Okazaki, A. y Avison, M.B.** (2007). Aph(3')-IIc, an aminoglycoside resistance determinant from *Stenotrophomonas maltophilia*. *Antimicrob Agents Chemother* **51**: 359-360.
- Okazaki, A. y Avison, M.B.** (2008). Induction of L1 and L2 beta-lactamase production in *Stenotrophomonas maltophilia* is dependent on an AmpR-type regulator. *Antimicrob Agents Chemother* **52**: 1525-1528.
- Olivares, J., Bernardini, A., Garcia-Leon, G., Corona, F., M, B.S. y Martinez, J.L.** (2013). The intrinsic resistome of bacterial pathogens. *Front Microbiol* **4**: 103.
- Oliveros, J.C.** (2007). FIESTA@BioinfoGP. An interactive server for analyzing DNA microarray experiments with replicates. <http://bioinfoGP.cnb.csic.es/tools/FIESTA>.
- Ow, M.C., Perwez, T. y Kushner, S.R.** (2003). RNase G of *Escherichia coli* exhibits only limited functional overlap with its essential homologue, RNase E. *Mol Microbiol* **49**: 607-622.
- Palleroni, N.J. y Bradbury, J.F.** (1993). *Stenotrophomonas*, a new bacterial genus for *Xanthomonas maltophilia* (Hugh 1980) Swings et al. 1983. *Int J Syst Bacteriol* **43**: 606-609.
- Park, M., Kim, C., Yang, J., Lee, H., Shin, W., Kim, S. y Sa, T.** (2005). Isolation and characterization of diazotrophic growth promoting bacteria from rhizosphere of agricultural crops of Korea. *Microbiol Res* **160**: 127-133.
- Pendleton, J.N., Gorman, S.P. y Gilmore, B.F.** (2013). Clinical relevance of the ESKAPE pathogens. *Expert Rev Anti Infect Ther* **11**: 297-308.

- Petrova, O.E. y Sauer, K.** (2010). The novel two-component regulatory system BfiSR regulates biofilm development by controlling the small RNA *rsmZ* through CafA. *J Bacteriol* **192**: 5275-5288.
- Pfaffl, M.W.** (2001). A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Res* **29**: e45.
- Poirel, L., Nguyen, T.V., Weintraub, A., Leviandier, C. y Nordmann, P.** (2006). Plasmid-mediated quinolone resistance determinant *qnrS* in *Enterobacter cloacae*. *Clin Microbiol Infect* **12**: 1021-1023.
- Poirel, L., Rodriguez-Martinez, J.M., Mammeri, H., Liard, A. y Nordmann, P.** (2005). Origin of plasmid-mediated quinolone resistance determinant QnrA. *Antimicrob Agents Chemother* **49**: 3523-3525.
- Pommier, Y., Leo, E., Zhang, H. y Marchand, C.** (2010). DNA topoisomerases and their poisoning by anticancer and antibacterial drugs. *Chem Biol* **17**: 421-433.
- Rashid, M.H. y Kornberg, A.** (2000). Inorganic polyphosphate is needed for swimming, swarming, and twitching motilities of *Pseudomonas aeruginosa*. *Proc Natl Acad Sci U S A* **97**: 4885-4890.
- Ribbeck-Busch, K., Roder, A., Hasse, D., de Boer, W., Martinez, J.L., Hagemann, M. y Berg, G.** (2005). A molecular biological protocol to distinguish potentially human pathogenic *Stenotrophomonas maltophilia* from plant-associated *Stenotrophomonas rhizophila*. *Environ Microbiol* **7**: 1853-1858.
- Rice, L.B.** (2008). Federal funding for the study of antimicrobial resistance in nosocomial pathogens: no ESKAPE. *J Infect Dis* **197**: 1079-1081.
- Rigsby, R.E., Fillgrove, K.L., Beihoffer, L.A. y Armstrong, R.N.** (2005). Fosfomycin resistance proteins: a nexus of glutathione transferases and epoxide hydrolases in a metalloenzyme superfamily. *Methods Enzymol* **401**: 367-379.
- Romanenko, L.A., Uchino, M., Tanaka, N., Frolova, G.M., Slinkina, N.N. y Mikhailov, V.V.** (2008). Occurrence and antagonistic potential of *Stenotrophomonas* strains isolated from deep-sea invertebrates. *Arch Microbiol* **189**: 337-344.
- Ryan, R.P., Monchy, S., Cardinale, M., Taghavi, S., Crossman, L., Avison, M.B., Berg, G., van der Lelie, D. y Dow, J.M.** (2009). The versatility and adaptation of bacteria from the genus *Stenotrophomonas*. *Nat Rev Microbiol* **7**: 514-525.
- Sabina, J., Dover, N., Templeton, L.J., Smulski, D.R., Soll, D. y LaRossa, R.A.** (2003). Interfering with different steps of protein synthesis explored by transcriptional profiling of *Escherichia coli* K-12. *J Bacteriol* **185**: 6158-6170.
- Sader, H.S. y Jones, R.N.** (2005). Antimicrobial susceptibility of uncommonly isolated non-enteric Gram-negative bacilli. *Int J Antimicrob Agents* **25**: 95-109.
- Salgado-Villagrán, F.** (2011). Interconexión entre resistencia intrínseca y resistencia adquirida a quinolonas de *Stenotrophomonas maltophilia*. **Master Thesis**.
- Sambrook, J. y Russell, D.W.** (2001). Molecular cloning: a laboratory manual (New York).
- Sanchez, M.B., Hernandez, A. y Martinez, J.L.** (2009). *Stenotrophomonas maltophilia* drug resistance. *Future Microbiol* **4**: 655-660.
- Sanchez, M.B., Hernandez, A., Rodriguez-Martinez, J.M., Martinez-Martinez, L. y Martinez, J.L.** (2008). Predictive analysis of transmissible quinolone resistance indicates *Stenotrophomonas maltophilia* as a potential source of a novel family of Qnr determinants. *BMC Microbiol* **8**: 148.

- Sanchez, M.B. y Martinez, J.L.** (2010). SmQnr contributes to intrinsic resistance to quinolones in *Stenotrophomonas maltophilia*. *Antimicrob Agents Chemother* **54**: 580-581.
- Sanchez, M.B. y Martinez, J.L.** (2012). Differential epigenetic compatibility of qnr antibiotic resistance determinants with the chromosome of *Escherichia coli*. *PLoS One* **7**: e35149.
- Sanchez, P., Alonso, A. y Martinez, J.L.** (2002). Cloning and characterization of SmeT, a repressor of the *Stenotrophomonas maltophilia* multidrug efflux pump SmeDEF. *Antimicrob Agents Chemother* **46**: 3386-3393.
- Sanchez, P., Alonso, A. y Martinez, J.L.** (2004). Regulatory regions of smeDEF in *Stenotrophomonas maltophilia* strains expressing different amounts of the multidrug efflux pump SmeDEF. *Antimicrob Agents Chemother* **48**: 2274-2276.
- Saramago, M., Domingues, S., Viegas, S.C. y Arraiano, C.M.** (2014). Biofilm formation and antibiotic resistance in *Salmonella* Typhimurium are affected by different ribonucleases. *J Microbiol Biotechnol* **24**: 8-12.
- Sauer, R.T., Bolon, D.N., Burton, B.M., Burton, R.E., Flynn, J.M., Grant, R.A., Hersch, G.L., Joshi, S.A., Kenniston, J.A., Levchenko, I., Neher, S.B., Oakes, E.S., Siddiqui, S.M., Wah, D.A. y Baker, T.A.** (2004). Sculpting the proteome with AAA(+) proteases and disassembly machines. *Cell* **119**: 9-18.
- Schumann, W.** (2007). Thermosensors in eubacteria: role and evolution. *J Biosci* **32**: 549-557.
- Schuster, M., Lostroh, C.P., Ogi, T. y Greenberg, E.P.** (2003). Identification, timing, and signal specificity of *Pseudomonas aeruginosa* quorum-controlled genes: a transcriptome analysis. *J Bacteriol* **185**: 2066-2079.
- Senol, E., DesJardin, J., Stark, P.C., Barefoot, L. y Snyderman, D.R.** (2002). Attributable mortality of *Stenotrophomonas maltophilia* bacteremia. *Clin Infect Dis* **34**: 1653-1656.
- Shaw, K.J., Miller, N., Liu, X., Lerner, D., Wan, J., Bittner, A. y Morrow, B.J.** (2003). Comparison of the changes in global gene expression of *Escherichia coli* induced by four bactericidal agents. *J Mol Microbiol Biotechnol* **5**: 105-122.
- Shen, L.L., Mitscher, L.A., Sharma, P.N., O'Donnell, T.J., Chu, D.W., Cooper, C.S., Rosen, T. y Pernet, A.G.** (1989). Mechanism of inhibition of DNA gyrase by quinolone antibacterials: a cooperative drug-DNA binding model. *Biochemistry* **28**: 3886-3894.
- Silva-Rocha, R., Martinez-Garcia, E., Calles, B., Chavarria, M., Arce-Rodriguez, A., de Las Heras, A., Paez-Espino, A.D., Durante-Rodriguez, G., Kim, J., Nikel, P.I., Platero, R. y de Lorenzo, V.** (2013). The Standard European Vector Architecture (SEVA): a coherent platform for the analysis and deployment of complex prokaryotic phenotypes. *Nucleic Acids Res* **41**: D666-675.
- Singh, B. y Gupta, R.S.** (2009). Conserved inserts in the Hsp60 (GroEL) and Hsp70 (DnaK) proteins are essential for cellular growth. *Mol Genet Genomics* **281**: 361-373.
- Song, W.S., Lee, M. y Lee, K.** (2011). RNase G participates in processing of the 5'-end of 23S ribosomal RNA. *J Microbiol* **49**: 508-511.
- Soo, V.W., Hanson-Manful, P. y Patrick, W.M.** (2011). Artificial gene amplification reveals an abundance of promiscuous resistance determinants in *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci U S A* **108**: 1484-1489.

- Soulsby, L.** (2011). Antimicrobial resistance: animal use of antibiotics. Oxford Textbook of Zoonoses: Biology, Clinical Practice, and Public Health Control (Oxford University Press).
- Spindler, E.C., Boyle, N.R., Hancock, R.E. y Gill, R.T.** (2013). Genome-wide identification of genes conferring energy related resistance to a synthetic antimicrobial peptide (Bac8c). *PLoS One* **8**: e55052.
- Stover, C.K., Pham, X.Q., Erwin, A.L., Mizoguchi, S.D., Warrenner, P., Hickey, M.J., Brinkman, F.S., Hufnagle, W.O., Kowalik, D.J., Lagrou, M., Garber, R.L., Goltry, L., Tolentino, E., Westbrook-Wadman, S., Yuan, Y., Brody, L.L., Coulter, S.N., Folger, K.R., Kas, A., Larbig, K., Lim, R., Smith, K., Spencer, D., Wong, G.K., Wu, Z., Paulsen, I.T., Reizer, J., Saier, M.H., Hancock, R.E., Lory, S. y Olson, M.V.** (2000). Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, an opportunistic pathogen. *Nature* **406**: 959-964.
- Strahilevitz, J., Engelstein, D., Adler, A., Temper, V., Moses, A.E., Block, C. y Robicsek, A.** (2007). Changes in qnr prevalence and fluoroquinolone resistance in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Enterobacter* spp. collected from 1990 to 2005. *Antimicrob Agents Chemother* **51**: 3001-3003.
- Sulavik, M.C., Houseweart, C., Cramer, C., Jiwani, N., Murgolo, N., Greene, J., DiDomenico, B., Shaw, K.J., Miller, G.H., Hare, R. y Shimer, G.** (2001). Antibiotic susceptibility profiles of *Escherichia coli* strains lacking multidrug efflux pump genes. *Antimicrob Agents Chemother* **45**: 1126-1136.
- Swings, J., De Vos, M., Van den Mooter, M. y De Ley, J.** (1983). Transfer of *Pseudomonas maltophilia* Hugh 1981 to the genus *Xanthomonas* as *Xanthomonas maltophilia* (Hugh 1981) comb. nov. *Int. J. Syst Bacteriol* **33**: 409-413.
- Tamae, C., Liu, A., Kim, K., Sitz, D., Hong, J., Becket, E., Bui, A., Solaimani, P., Tran, K.P., Yang, H. y Miller, J.H.** (2008). Determination of antibiotic hypersensitivity among 4,000 single-gene-knockout mutants of *Escherichia coli*. *J Bacteriol* **190**: 5981-5988.
- Thomas, J.G. y Baneyx, F.** (2000). ClpB and HtpG facilitate de novo protein folding in stressed *Escherichia coli* cells. *Mol Microbiol* **36**: 1360-1370.
- Thorvaldsdottir, H., Robinson, J.T. y Mesirov, J.P.** (2013). Integrative Genomics Viewer (IGV): high-performance genomics data visualization and exploration. *Brief Bioinform* **14**: 178-192.
- Tock, M.R., Walsh, A.P., Carroll, G. y McDowall, K.J.** (2000). The CafA protein required for the 5'-maturation of 16 S rRNA is a 5'-end-dependent ribonuclease that has context-dependent broad sequence specificity. *J Biol Chem* **275**: 8726-8732.
- Tomoyasu, T., Mogk, A., Langen, H., Goloubinoff, P. y Bukau, B.** (2001). Genetic dissection of the roles of chaperones and proteases in protein folding and degradation in the *Escherichia coli* cytosol. *Mol Microbiol* **40**: 397-413.
- Tran, J.H., Jacoby, G.A. y Hooper, D.C.** (2005). Interaction of the plasmid-encoded quinolone resistance protein QnrA with *Escherichia coli* topoisomerase IV. *Antimicrob Agents Chemother* **49**: 3050-3052.
- Tran, T.D., Kwon, H.Y., Kim, E.H., Kim, K.W., Briles, D.E., Pyo, S. y Rhee, D.K.** (2011). Decrease in penicillin susceptibility due to heat shock protein ClpL in *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* **55**: 2714-2728.

- Turnidge, J., Kahlmeter, G. y Kronvall, G.** (2006). Statistical characterisation of bacterial wild-type MIC value distributions and the determination of epidemiological cut-off values. *Clin Microbiol Infect* **12**: 418-425.
- Turnidge, J. y Paterson, D.L.** (2007). Setting and revising antibacterial susceptibility breakpoints. *Clin Microbiol Rev* **20**: 391-408, table of contents.
- Umitsuki, G., Wachi, M., Takada, A., Hikichi, T. y Nagai, K.** (2001). Involvement of RNase G in in vivo mRNA metabolism in *Escherichia coli*. *Genes Cells* **6**: 403-410.
- Utaida, S., Dunman, P.M., Macapagal, D., Murphy, E., Projan, S.J., Singh, V.K., Jayaswal, R.K. y Wilkinson, B.J.** (2003). Genome-wide transcriptional profiling of the response of *Staphylococcus aureus* to cell-wall-active antibiotics reveals a cell-wall-stress stimulon. *Microbiology* **149**: 2719-2732.
- Valdezate, S., Vindel, A., Saez-Nieto, J.A., Baquero, F. y Canton, R.** (2005). Preservation of topoisomerase genetic sequences during in vivo and in vitro development of high-level resistance to ciprofloxacin in isogenic *Stenotrophomonas maltophilia* strains. *J Antimicrob Chemother* **56**: 220-223.
- VanBogelen, R.A., Kelley, P.M. y Neidhardt, F.C.** (1987). Differential induction of heat shock, SOS, and oxidation stress regulons and accumulation of nucleotides in *Escherichia coli*. *J Bacteriol* **169**: 26-32.
- Vila, J. y Marco, F.** (2010). [Interpretive reading of the non-fermenting gram-negative bacilli antibiogram]. *Enferm Infecc Microbiol Clin* **28**: 726-736.
- Waksman, S.A.** (1947). What is an antibiotic or an antibiotic substance? *Mycologia* **39**: 565-569.
- Walsh, T.R., MacGowan, A.P. y Bennett, P.M.** (1997). Sequence analysis and enzyme kinetics of the L2 serine beta-lactamase from *Stenotrophomonas maltophilia*. *Antimicrob Agents Chemother* **41**: 1460-1464.
- Wang, J., Song, J.J., Franklin, M.C., Kamtekar, S., Im, Y.J., Rho, S.H., Seong, I.S., Lee, C.S., Chung, C.H. y Eom, S.H.** (2001). Crystal structures of the HslVU peptidase-ATPase complex reveal an ATP-dependent proteolysis mechanism. *Structure* **9**: 177-184.
- White, S.R. y Lauring, B.** (2007). AAA+ ATPases: achieving diversity of function with conserved machinery. *Traffic* **8**: 1657-1667.
- WHO** (2006). World Health Organization. Overcoming antibiotic resistance. World Health Organization Report in Infection diseases.
- Wilson, B.A. y Salyers, A.A.** (2002). Ecology and physiology of infectious bacteria--implications for biotechnology. *Curr Opin Biotechnol* **13**: 267-274.
- Wong, K.S. y Houry, W.A.** (2012). Novel structural and functional insights into the MoxR family of AAA+ ATPases. *J Struct Biol* **179**: 211-221.
- Wright, G.D.** (2005). Bacterial resistance to antibiotics: enzymatic degradation and modification. *Adv Drug Deliv Rev* **57**: 1451-1470.
- Wright, G.D.** (2007). The antibiotic resistome: the nexus of chemical and genetic diversity. *Nat Rev Microbiol* **5**: 175-186.
- Wright, G.D.** (2010a). The antibiotic resistome. *Expert Opin Drug Discov* **5**: 779-788.
- Wright, G.D.** (2010b). Q&A: Antibiotic resistance: where does it come from and what can we do about it? *BMC Biol* **8**: 123.
- Wu, J.J., Ko, W.C., Tsai, S.H. y Yan, J.J.** (2007). Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants QnrA, QnrB, and QnrS among clinical isolates

- of *Enterobacter cloacae* in a Taiwanese hospital. *Antimicrob Agents Chemother* **51**: 1223-1227.
- Yamaguchi, Y., Tomoyasu, T., Takaya, A., Morioka, M. y Yamamoto, T.** (2003). Effects of disruption of heat shock genes on susceptibility of *Escherichia coli* to fluoroquinolones. *BMC Microbiol* **3**: 16.
- Yim, G., Wang, H.H. y Davies, J.** (2006). The truth about antibiotics. *Int J Med Microbiol* **296**: 163-170.
- Yu, E.W., McDermott, G., Zgurskaya, H.I., Nikaido, H. y Koshland, D.E., Jr.** (2003). Structural basis of multiple drug-binding capacity of the AcrB multidrug efflux pump. *Science* **300**: 976-980.
- Zahn, R., Buckle, A.M., Perrett, S., Johnson, C.M., Corrales, F.J., Golbik, R. y Fersht, A.R.** (1996). Chaperone activity and structure of monomeric polypeptide binding domains of GroEL. *Proc Natl Acad Sci U S A* **93**: 15024-15029.
- Zhang, L., Li, X.Z. y Poole, K.** (2000). Multiple antibiotic resistance in *Stenotrophomonas maltophilia*: involvement of a multidrug efflux system. *Antimicrob Agents Chemother* **44**: 287-293.
- Zhang, L., Li, X.Z. y Poole, K.** (2001). SmeDEF multidrug efflux pump contributes to intrinsic multidrug resistance in *Stenotrophomonas maltophilia*. *Antimicrob Agents Chemother* **45**: 3497-3503.
- Zhao, J.Y. y Dang, H.** (2012). Coastal seawater bacteria harbor a large reservoir of plasmid-mediated quinolone resistance determinants in Jiaozhou Bay, China. *Microb Ecol* **64**: 187-199.

ANEXO

8. ANEXO

Tabla 14. Escrutinio genotecas 1, 2, 3 y 4 de *S. maltophilia* D457.

Cepas		Antibióticos											
		CN	TOB	NOR	LEV	E	MOX	CAZ	C	TGC	SXT	CT	
D457		2,6 ^a	1,8	1,8	2,7	1,5	2,7	3,3	3	2,7	1,8	2	
D457		2,6	1,8	1,7	2,7	1,4	2,7	3,3	3	2,8	1,8	2	
Genoteca 1	Polimixina 1024	6	2,6	1,5	1,6	2,4	0,9	2,7	ND	2,8	2,6	1,3	2
		7	2,7	1,4	1,3	2,4	0,6	2,6	ND	2,8	2,6	1,3	2
		9	2,9	1,8	1,9	2,5	0,9	2,8	ND	2,8	2,5	1,1	2
		12	2,8	1,8	1,6	2,4	0,6	2,7	ND	2,8	2,4	1,2	2
		13	2,8	1,8	1,8	2,3	0,6	2,7	ND	2,8	2,5	1,1	2
		20	2,8	1,9	1,8	2,6	0,6	2,8	ND	2,8	2,6	1,3	2
		27	2,6	1,3	1,7	2,4	0,8	2,7	ND	2,8	2,5	1,3	1,9
		29	2,9	1,7	1,7	2,5	0,9	2,8	ND	2,8	2,6	1,3	2
		31	2,7	1,5	1,8	2,5	0,8	2,8	ND	2,8	2,5	1,3	1,9
		33	2,8	1,9	1,7	2,3	0,8	2,7	ND	2,8	2,6	1,2	1,9
	Fosfomicina 512	1	1,9	1,3	1	2,3	0,6	2,6	ND	2,3	2,4	1,6	2,1
		2	1,9	1,5	0,9	2,2	0,6	2,6	ND	2,3	2,5	ND	2,1
		3	ND	1,4	1,1	2,3	0,6	2,5	ND	2,3	ND	ND	2,1
		4	2	1,4	1	2,4	0,6	2,6	ND	2,4	2,6	0,9	2,2
		5	2	1,5	1	2,1	0,6	2,5	ND	2,4	2,4	1,3	2,1
		6	2,8	1,8	1,9	2,9	1,2	3	ND	2,9	2,7	1,3	2,2
		7	2,4	1,7	2	2,7	1,6	2,8	ND	2,8	2,7	1,3	2
		8	2,8	2,5	1,3	2,9	1,3	3,1	ND	2,8	2,9	1,1	2,3
		9	1,7	1,5	1,1	2,3	0,6	2,7	ND	2,4	2,6	1	2,1
		10	1,9	1,6	1,1	2,3	0,6	2,5	ND	2,2	2,4	0,8	2,2
	Fosfomicina 1024	1	2,1	1,3	1	2,2	0,6	2,6	ND	2,5	2,5	ND	2,1
		2	2,9	2,4	1,4	2,5	0,6	2,8	ND	2,6	2,9	1,3	2,2
		3	2	1,2	1	2,3	0,6	2,6	ND	2,4	2,6	1,5	2,2
		4	1,9	1,2	0,9	2,3	0,6	2,5	ND	2,5	2,6	1,1	2,2
		5	1,8	1,2	0,9	2,3	0,6	2,7	ND	2,4	1,5	1,2	2,1
		6	1,9	1,8	0,9	2,3	0,6	2,6	ND	2,3	2,4	ND	2,1
		7	2,2	1,6	0,9	2,3	0,6	2,5	ND	2,3	2,5	0,9	2,1
		8	1,8	1,3	1,1	2,3	0,6	2,6	ND	2,4	2,5	ND	2,1
		9	1,9	1,6	1	2,2	0,6	2,7	ND	2,2	2,4	1,3	2,2
		10	1,9	1,5	1	2,3	0,6	2,6	ND	2,2	2,3	0,7	2,1
	Gentamicina 80	33	3,1	2,2	2	2,7	1,4	2,9	ND	3,2	2,7	1,4	2
		34	1,7	0,6	1,1	2,2	1,2	2,8	ND	3	2,6	1,2	2,1
		35	1,7	0,6	1,1	2,1	1	2,8	ND	2,8	2,6	1,2	2,1
		36	1,8	0,6	1,2	2,1	1,1	2,9	ND	2,9	2,7	1,1	2,2
		37	1,6	0,6	1,1	2,3	1,4	2,6	ND	2,8	2,6	1,3	2,1
		38	1,8	0,6	1,1	2,3	1,7	2,7	ND	2,8	2,5	0,9	2,1
		39	1,8	0,6	1,2	2,4	1,7	2,7	ND	2,9	2,7	1,4	2,1
		40	1,7	0,6	ND	2,3	1,6	2,7	ND	3,1	2,6	1,2	2,2
		41	1,6	0,6	1,2	2,2	1,7	2,6	ND	2,6	2,4	1,1	2
		42	1,8	0,6	1,5	2,3	1,5	2,7	ND	3	2,6	1,4	2,3
	Gentamicin a 100	16	2,5	0,6	0,9	2,3	0,9	2,6	ND	2,8	2,8	1,2	2,1
		18	3	1,8	1	2,7	1,3	2,8	ND	2,8	2,7	1,3	2
		23	2,6	0,7	1,1	2,1	1,1	2,6	ND	2,9	2,6	1,2	2,1
		40	1,6	0,6	1,3	2,2	1,5	2,7	ND	2,9	2,6	1,1	2

Genoteca 2		46	1,3	0,6	1,1	2,3	1,4	2,8	ND	2,7	2,6	1,2	2
		50	2,8	2	1,9	2,5	1,3	2,8	ND	2,7	2,6	1,2	2
		52	2,8	0,6	1	2,2	1,4	2,6	ND	2,9	2,7	1,2	1,9
		54	2,5	1	1,2	2,2	1,2	2,6	ND	2,8	2,7	1,2	2
		56	2,9	1,7	1,9	2,5	1,5	2,8	ND	2,7	2,7	1,4	2
		67	1,6	0,6	1,3	2,1	1,3	2,6	ND	3,8	2,6	1,3	2
	Polimixina 1024	51	3,3	1,7	1,8	2,5	1,2	2,9	ND	2,9	2,3	1,4	1,9
		52	2,9	1,7	1,6	2,5	1,3	3,0	ND	3,1	2,4	1,6	0,6
		47	3,0	1,8	1,5	2,7	1,3	0,9	ND	3,1	2,5	1,5	0,6
		48	3,5	2,6	1,6	2,7	0,8	1,0	ND	3,1	2,5	1,8	2,2
		14	3,2	1,0	1,4	2,7	1,2	1,1	ND	3,2	2,6	1,4	0,6
		42	3,0	1,1	1,5	2,6	1,1	1,0	ND	3,1	2,5	1,5	0,6
		23	2,5	0,6	1,4	2,6	1,3	0,6	ND	2,9	2,4	1,5	2,1
		49	2,7	0,9	1,8	2,6	1,0	1,0	ND	3,0	2,5	1,5	0,6
		15	3,2	1,4	2,1	2,9	1,1	1,1	ND	3,1	2,6	1,6	0,6
		50	2,6	1,5	1,8	2,5	1,0	2,8	ND	3,1	2,3	1,4	2,0
	Polimixina 2048	16	2,7	1,8	1,7	2,5	1,2	2,7	ND	2,9	2,6	1,3	1,8
		12	2,9	2,0	1,7	2,7	1,4	2,9	ND	2,9	2,7	1,4	0,6
		10	2,9	2,0	1,7	2,7	1,2	3,0	ND	3,2	2,8	1,4	0,6
		15	2,9	1,9	1,7	2,7	1,2	2,9	ND	2,9	2,8	1,5	0,6
		17	2,9	2,0	1,7	2,7	1,4	2,9	ND	3,2	2,7	1,3	0,6
		5	2,8	1,7	1,7	2,4	1,3	2,8	ND	2,8	2,7	1,3	0,6
		1	2,6	1,8	1,6	2,9	1,1	2,6	ND	2,8	2,5	1,2	0,6
		4	2,8	2,0	2,0	2,5	1,3	2,9	ND	2,8	2,4	1,4	0,6
		9	2,9	2,0	1,9	2,7	1,2	2,9	ND	3,1	2,8	1,4	0,6
	Fosfomicina 512	4	3,3	2,0	1,6	2,5	1,1	2,6	ND	2,9	2,7	1,0	1,9
		3	3,1	2,4	1,7	2,6	1,2	2,7	ND	3,2	2,9	1,2	2,0
		11	3,4	1,7	1,9	2,9	1,3	2,4	ND	3,0	3,0	1,5	2,2
		10	2,9	2,0	1,6	2,7	1,2	2,7	ND	2,9	2,8	1,2	2,0
		7	2,8	2,0	1,5	2,6	1,1	2,7	ND	2,9	2,7	1,5	1,9
		6	3,0	2,0	1,7	2,5	1,3	2,7	ND	3,1	2,8	1,5	1,9
		8	2,9	2,2	1,7	2,5	1,2	2,7	ND	2,9	2,8	1,3	2,0
		2	3,3	2,1	1,8	2,4	1,1	2,7	ND	3,3	2,9	1,0	2,0
		1	3,1	2,4	1,6	2,7	1,5	2,7	ND	3,1	3,0	1,3	2,0
		5	3,0	2,0	1,4	2,5	1,1	2,6	ND	3,0	2,8	1,0	2,0
	Fosfomicina 1024	5	2,7	2,2	1,6	2,6	0,6	2,8	ND	3,0	2,9	1,4	2,1
		3	3,1	2,3	1,5	2,7	0,6	2,9	ND	2,9	3,0	1,4	2,1
		4	3,1	2,3	1,5	2,6	0,6	2,7	ND	3,2	2,8	1,3	2,1
		2	3,2	2,5	1,7	2,6	0,6	2,8	ND	2,8	2,8	1,5	2,2
		1	2,9	2,2	1,6	2,6	0,6	2,8	ND	2,9	2,8	1,4	2,0
		7	3,0	2,0	1,8	2,7	1,0	2,9	ND	3,1	2,9	1,5	2,1
		8	3,0	2,3	1,7	2,8	0,6	2,8	ND	3,1	2,8	1,5	2,1
		6	3,0	2,1	1,7	2,5	1,0	2,6	ND	3,0	2,6	1,2	2,0
		9	3,1	2,1	1,7	2,5	0,8	2,7	ND	3,0	2,8	1,2	2,0
		10	3,1	2,3	1,7	2,5	0,6	2,8	ND	3,2	2,9	1,4	2,0
	Gentamicina 80	12	2,6	0,6	0,6	2,1	0,6	2,7	ND	2,9	2,7	1,2	2,0
		13	1,3	0,6	0,9	2,0	0,6	2,2	ND	3,1	2,6	1,2	2,1
		18	2,5	0,6	0,6	2,5	0,6	2,5	ND	2,8	2,7	1,4	2,0
		16	2,0	0,6	0,6	1,7	0,6	2,3	ND	3,0	2,8	1,2	2,2
		4	2,5	0,6	1,0	2,1	0,6	2,5	ND	2,9	2,5	1,2	2,1
		2	2,6	0,6	0,6	1,8	0,6	2,2	ND	2,9	2,6	1,2	2,1
		7	2,4	0,6	0,6	2,1	0,6	2,5	ND	2,9	2,7	1,3	2,2

Genoteca 3	Fosfomicina 1024	10	2,5	0,6	1,0	2,0	0,6	2,6	ND	2,8	2,5	1,1	2,1
		1	2,7	0,6	0,6	2,2	0,6	3,0	ND	3,2	3,0	1,6	2,4
		21	2,7	0,9	ND	2,3	0,6	2,6	ND	2,8	2,6	1,4	2,1
		1	2,6	1,3	1,1	2,4	0,9	ND	3,5	2,6	2,8	1,4	2,7
		2	2,5	1,1	1,2	2,4	0,8	ND	3,1	2,6	2,5	1,4	2,5
		5	3,2	3	1,3	2,4	1,2	ND	3,3	ND	3	1,6	2,3
		8	2,4	1,1	1,2	2,5	1	ND	3,2	2,6	2,8	1,6	2,5
		11	1,2	1,1	1,1	2,4	1	ND	3,1	2,6	2,6	1,4	2,5
		23	1,3	1,3	1,2	2,4	1	ND	3,2	2,7	2,8	1,4	2,5
		50	3,2	2,8	1,3	2,2	1,2	ND	3,2	2,6	3	1,6	2
Genoteca 3	Fosfomicina 512	61	2,9	2	1,4	2,5	1,2	ND	3,3	2,6	3	1,6	2
		62	1,3	1,2	1,2	2,5	1	ND	3	2,7	2,8	1,6	0,6
		71	1,3	1,2	1,2	2,5	0,8	ND	3	2,7	2,8	1,4	0,6
		1	2,6	1,9	1,7	2,4	0,8	ND	3,3	3	2,8	1,4	2,2
		11	2,6	1,5	1,6	2,5	1,4	ND	3,2	3	2,8	1,6	2,2
		14	2,6	1,8	1,7	2,5	1,4	ND	3,2	3	2,8	1,6	2,2
		23	2,6	1,7	1,5	2,5	1,5	ND	3,5	3,2	2,8	1,6	ND
		24	2,8	1,5	1,4	2,5	1,4	ND	3,5	3	2,8	1,4	2
		32	2,8	1,6	1,5	2,5	1,4	ND	3,5	3,2	2,8	1,4	2,2
		33	2,6	1,6	1,6	2,5	1,4	ND	3,6	3,3	ND	1,8	2,4
Genoteca 3	Gentamicina 100	46	2,6	1,2	1,5	2,5	1,2	ND	3,2	2,8	2,6	1,6	2,5
		58	2,6	1,2	1,4	2,4	0,8	ND	3,3	2,8	2,6	1,6	2,5
		67	2,6	1,5	1,3	2,6	1,4	ND	3,5	3,2	3	1,6	2,5
		1	1,5	1	1	2	1,2	ND	2,5	3,2	2,8	1,6	2,5
		14	1,4	1	1	1,8	1,2	ND	2,5	3,2	2,8	1,6	2,5
		16	1,4	1	1,2	2	1,2	ND	2,6	3,2	2,8	1,6	2,5
		32	1,4	1	1,1	1,8	1,2	ND	2,6	3,2	2,8	1,6	2,3
		34	1,4	1	1,2	2	1,2	ND	2,7	3,2	2,6	1,4	2,4
		49	1,3	0,8	0,9	1,8	1,2	ND	2,6	3,3	2,8	1,4	2,4
		52	1,4	0,6	1	2,2	1,4	ND	2,7	3,5	2,8	1,4	2,3
Genoteca 3	Gentamicina 80	55	1,4	0,6	1	2	1,2	ND	2,5	3,2	2,6	1,4	2
		67	1,4	0,6	1	2	1,2	ND	2,5	3,3	2,8	1,4	2,2
		70	1,4	0,6	1	2,1	1,2	ND	2,6	3,2	2,8	1,8	2,2
		11	1,2	0,6	1	2	1,2	ND	2,6	3,1	2,8	1,8	2
		12	1,4	0,6	1,4	2,2	1,4	ND	3,2	3,2	2,8	1,4	2,3
		13	1,3	0,6	1,1	1,8	1,6	ND	2,8	3,2	2,8	1,4	2,2
		18	2	0,9	1,3	2	1,4	ND	3,2	3,1	2,8	1,6	0,6
		21	1,4	0,7	1,1	2	1,2	ND	2,7	3,4	2,8	1,6	0,6
		26	1,3	0,6	1,3	2,2	1,4	ND	3	3,1	2,8	1,6	2
		59	1,3	0,6	1,1	2	1	ND	2,9	3	2,8	1,4	2,2
Genoteca 3	Gentamicina 160	62	1,4	0,6	1,2	2,1	1,4	ND	3	3,3	2,8	1,6	2
		66	1,4	0,6	1,2	2	1,4	ND	2,6	3,2	2,8	1,4	2
		72	1,3	0,6	1,7	2,5	1,4	ND	3,7	3,7	3,1	1,4	2,4
		6	1,5	1,1	1,1	2,4	1,4	ND	3,5	3,3	2,8	1,8	2,2
		9	1,4	1	1,2	2,4	1,2	ND	3,4	3,3	2,8	2	2,1
		13	1,3	1,1	1,3	2,3	1,4	ND	3,2	3,2	2,8	2	2
		17	1,3	1,1	1,1	2,4	1,4	ND	3,3	3,2	2,8	1,8	2,2
		18	1,4	1,2	1,2	2,4	1,4	ND	3,3	3	2,8	1,8	2
		19	1,3	0,6	1	2,3	1,4	ND	3,2	3,4	2,6	1,6	2,2
		32	1,3	1,1	1,3	2,5	1,4	ND	3,4	3,3	2,8	1,8	2,5
Genoteca 3	Gentamicina 160	47	1,4	1,2	1,4	2,5	1,4	ND	3,5	3,4	2,6	1,8	2,2
		1	3,2	1,7	1,8	2,5	1,4	ND	3,3	3,3	3	2	0,6

Genoteca 4		8	3	1,7	1,7	2,5	1,4	ND	3,5	3,3	3	2	0,6
		16	3	1,7	1,7	2,5	1,4	ND	3,5	3,3	2,8	2,2	0,6
		17	3	1,7	1,7	2,5	1,4	ND	3,5	3,3	3	2,2	0,6
		68	3	1,8	1,7	2,5	1,4	ND	3,2	3,2	2,8	2	0,6
	Trimetoprim 256	7	3	1,8	1,7	2,5	1,4	ND	3,3	3,2	2,8	1,6	2
		11	3	1,7	0,6	0,9	1,4	ND	3,3	1,4	2,8	0,8	0,6
		12	3	1,7	0,6	0,7	1,4	ND	3,4	2	3	0,8	0,6
		13	3	1,7	0,6	0,9	1,4	ND	3,5	1,5	3	0,8	0,6
		21	2,8	1,7	0,6	1,1	1,6	ND	3,5	2,2	3	0,8	0,6
		26	3	1,6	0,6	1,3	1,6	ND	3,4	2,5	2,8	1,4	0,6
		30	3	1,8	1,5	2,5	1,6	ND	3,5	3,2	3	1,6	0,6
		34	2,8	1,6	1,5	2,3	1,4	ND	3,3	3	2,8	1,8	0,6
		36	2,8	1,7	1,5	2,3	1,4	ND	3,3	3	2,8	1,4	0,6
		42	3	1,8	0,8	2,6	1,4	ND	3,4	2,5	2,8	1,2	2,2
	Trimetoprim 512	5	3	1,8	0,6	1,1	1,4	ND	3,5	1,7	3	1	2,3
		8	3	1,5	1,5	2,5	1,4	ND	3,4	3,2	2,8	1,6	2,2
		12	2,8	1,7	1	1,3	1,6	ND	3,3	3	2,8	1,6	2
		14	3	1,6	1,5	2,5	1,4	ND	3,4	3,4	2,8	1,8	2,2
		15	2,6	1,5	0,6	0,9	1,6	ND	3,4	1,4	2,8	1,4	0,6
		18	3	1,4	1,5	2,5	1,4	ND	3,4	3,2	2,8	1,4	2,3
		20	3	1,6	0,6	0,8	1,6	ND	3,3	1,4	2,8	0,8	2,1
		21	2,6	1,7	1,5	2,5	1,4	ND	3,3	3	2,8	1,8	2,1
		25	3	1,7	0,6	0,8	1,4	ND	3,2	1,4	2,8	0,8	0,6
		27	3	1,7	1,5	2,5	1,4	ND	3,4	3,2	2,8	1,6	0,6
	Fosfomicina 1024	1	2,4	1,6	1,1	2,2	1,2	ND	3,2	2,5	2,8	1,4	2,2
		2	2,6	1,7	1	2,2	1,2	ND	3,2	2,5	2,8	1,4	2,3
		3	2,8	1,8	1,2	2,2	1	ND	3,2	2,7	2,6	1,8	2,1
		4	2,6	1,6	1,2	2	1	ND	3	2,6	2,6	1,6	2,1
		5	2,6	1,5	1,2	2,1	1	ND	3	2,7	2,8	1,6	2,1
		6	2,6	1,7	1,1	2,1	1	ND	3	2,6	2,8	1,6	2,3
		7	2,6	1,4	1,2	2,2	0,8	ND	3	2,5	2,8	1,6	2,4
		8	2,6	1,4	1,1	2,5	0,8	ND	3,2	2,6	2,8	1,8	2,5
		9	2,6	1,6	1,2	2,5	0,8	ND	3,3	2,6	2,6	1,8	2,4
		10	2,6	1,8	1,2	2,5	0,8	ND	3,2	2,5	2,6	1,6	2,3
	Fosfomicina 512	1	2,6	1,7	1,1	2	0,8	ND	3,2	2,5	2,6	1,6	2,4
		2	2,6	1,4	1	2	0,8	ND	2,8	2,5	2,6	1,5	1,6
		3	2,6	1,6	1,1	2,5	1	ND	3	2,6	2,8	1,8	2,4
		4	2,6	1,6	1	2,2	1	ND	3	2,6	2,6	1,6	2,3
		5	2,6	1,7	1	2	1,2	ND	3	2,5	2,6	1,4	2,4
		6	2,6	1,5	1	2,2	1	ND	3	2,5	2,6	1,8	2,3
		7	2,6	1,7	1	2,2	0,8	ND	2,8	2,5	2,4	1,6	2,2
		8	2,6	1,8	0,9	2,2	0,8	ND	3	2,7	2,6	1,6	2
		9	2,6	1,6	0,9	1,5	0,8	ND	3	2,7	2,6	1,6	2
		10	2,6	1,6	0,8	1,5	0,8	ND	3	2,7	2,6	1,6	2
	Gentamicina 100	2	2,7	1,8	1,1	2,5	1,2	ND	3,1	2,8	2,6	1,4	0,6
		7	1,3	0,7	1,2	1,5	1,2	ND	2,5	2,8	2,4	1,2	0,8
		18	1,7	1,4	1,2	2,5	1,2	ND	3	2,9	2,6	1,2	0,7
		22	1,4	1,1	1,2	2	1	ND	2,7	3	2,6	1,1	2
		26	1,4	1,2	1,2	2	1,2	ND	2,7	2,8	2,6	1,4	2
		43	1,6	1,2	1,3	2,5	1	ND	2,8	2,9	2,6	1,4	0,6
		45	1,4	0,7	0,7	1,5	0,8	ND	3	2,7	3,2	1,2	2,2
		54	2	0,8	0,8	1,8	1,2	ND	3,2	2,8	2,8	1,4	0,6

	60	1,7	1	1	2	1,1	ND	3	2,8	2,5	1,4	0,6
	75	2	1,1	1	2	1,2	ND	3,1	2,8	2,8	1,4	0,6
Gentamicina 80	3	1,7	1,7	0,8	1,2	1,2	ND	3	3	2,8	1,2	0,8
	9	1,4	1,3	1	1,5	1	ND	2,8	2,7	2,5	1,3	0,6
	10	1,6	1,1	1,3	2	1	ND	2,8	3	2,5	1,2	0,8
	14	1,8	1,2	1,3	2,2	1,4	ND	3,3	3,3	2,6	1,2	1,3
	18	1,8	1	1	1,5	1,4	ND	2,8	3	2,5	1,2	0,8
	19	1,5	0,8	1,1	1,5	1,4	ND	2,6	3	2,4	1,2	0,8
	20	1,8	1,2	0,8	1,2	1	ND	3,1	3,2	2,8	1,2	1
	21	1,4	1	1	1,8	1,2	ND	3,1	3,2	2,6	1,2	1
	22	1,4	0,8	0,9	1,8	1	ND	2,6	3,3	2,5	0,8	0,8
	26	1,3	0,7	1	1,2	0,8	ND	3,5	3,2	3,2	1,2	0,8
Polimixina 1024	1	2,7	1,5	1,2	2,2	1	ND	3	3	2,8	1,2	0,6
	2	2,8	1,4	1	2,2	1	ND	3,1	3,2	2,8	1,4	0,6
	3	2,8	1,4	1,3	2,2	1,2	ND	2,8	3	2,8	1,4	0,6
	4	2,8	1,4	1,2	2,2	1,2	ND	2,9	2,8	2,8	1,6	0,6
	5	2,8	1,4	1,2	2,2	1,2	ND	3	2,8	2,8	1,6	0,6
	6	2,8	1,6	1,3	2,2	1,2	ND	2,8	2,8	2,6	1,6	0,6
	7	2,7	1,4	1,3	2,2	1,2	ND	2,8	2,8	2,6	1,6	0,6
	8	2,7	1,4	1,4	2,2	1,2	ND	2,8	2,8	2,6	1,6	0,6
	9	2,9	1,4	1,2	2,2	1	ND	2,9	3	2,8	1,6	0,6
	10	2,6	1,6	1,3	2,2	1	ND	3	2,8	2,8	1,6	0,6
Polimixina 2048	17	2,8	1,5	1,3	2,5	1,4	ND	3,3	3,3	3	1,6	0,8
	21	2,8	1,5	1,3	2,5	1,4	ND	3,3	3,3	3	1,8	0,6
	25	2,8	1,5	1,4	2,5	1,4	ND	3,1	3,2	2,8	1,8	0,6
	28	2,7	1,6	1,4	2,5	1,4	ND	3,2	3	3	1,8	0,6
	35	3	1,7	1,4	2,5	1,2	ND	3,3	3,2	3	1,8	0,6
	39	2,8	2	1,5	2,5	1,2	ND	3,3	3,2	2,8	1,8	0,6
	43	2,8	2	1,5	2,5	1,4	ND	3	3	2,8	1,6	0,6
	47	2,8	2	1,4	2,5	1,2	ND	3,2	3	3	1,6	0,6
	48	2,8	2	1,4	2,5	1,2	ND	3,2	3	2,8	1,6	0,6
	49	2,8	1,8	1,4	2,5	1,4	ND	3,1	3	2,8	1,8	0,6
Trimetoprim 256	2	3,7	2,0	0,6	1,2	1,5	ND	3,7	1,9	3,1	0,7	0,7
	6	3,2	1,9	0,7	1,1	1,4	ND	3,2	2,0	2,8	0,7	0,7
	10	3,2	2,0	0,7	1,4	1,2	ND	3,8	2,1	2,8	1,0	0,8
	11	3,3	2,0	0,7	1,2	1,3	ND	3,6	1,8	2,8	0,9	2,4
	18	3,3	2,1	0,7	0,8	0,7	ND	3,7	1,8	2,3	0,7	0,7
	20	3,4	2,1	0,7	1,0	1,3	ND	3,7	1,7	2,9	0,7	0,7
	22	3,4	2,0	0,7	1,0	1,2	ND	3,7	1,4	2,7	0,7	0,7
	26	3,5	2,3	1,5	2,9	1,4	ND	3,8	3,5	2,9	2,5	0,8
	40	3,5	1,9	0,7	1,6	0,8	ND	3,6	2,9	2,5	1,9	0,8
	46	3,9	2,4	0,7	1,1	1,2	ND	3,6	2,2	3,2	0,7	0,7

^aLos valores corresponden a los halos de discos de antibióticos en cm.

En negrita se muestran los mutantes identificados (ver Tabla 10).

En celeste se indica el fenotipo de la cepa silvestre (se hicieron 2 réplicas). En verde se señalan los halos más de 0.3 cm menores que el halo de la cepa silvestre D457 (resistentes) y en amarillo los halos más de 0.3 cm mayores que el halo de la cepa silvestre (sensibles).

ND: No determinado

Tabla 15. Transcriptoma FSV46.

RPKM FSV46 ^a	RPKM D457 ^a	Media ^b	FSV46 /D457 ^c	Nombre	Producto CDS
1,4	-13,29	-5,94	14,69	5SrRNA	
1,06	-13,29	-6,11	14,35	SMD_2287	RebB protein
0,66	-13,29	-6,31	13,95	trbC	Conjugative transfer protein TrbC
0,09	-13,29	-6,6	13,38	SMD_1552	hypothetical protein
-0,45	-13,29	-6,87	12,84	SMD_0889	hypothetical protein
1,03	-1,92	-0,45	2,95	SMD_2514	flp pilus assembly protein TadD%2C contains TPR repeats
2,67	0,13	1,4	2,54	SMD_2429	Aerotaxis sensor receptor protein
5,66	3,39	4,52	2,27	tRNA-Ser	
9,33	7,06	8,2	2,27	tRNA-Gln	
2,06	-0,05	1	2,1	SMD_3831	hypothetical protein
12,72	10,74	11,73	1,98	groES	heat shock protein 60 family co-chaperone GroES
4,95	3	3,98	1,95	tRNA-Ser	
0,3	-1,65	-0,67	1,95	SMD_1538	hypothetical protein
1,78	-0,17	0,81	1,95	SMD_1569	integrase regulator R
3,39	1,43	2,41	1,95	C4.5	
3,27	1,31	2,29	1,95	SMD_2218	hypothetical protein
6,87	4,97	5,92	1,9	SMD_1358	marR family transcriptional regulator
13,26	11,48	12,37	1,78	groEL	heat shock protein 60 family chaperone GroEL
2,14	0,36	1,25	1,78	SMD_3866	ATP%2FGTP-binding protein
1,4	-0,23	0,58	1,63	SMD_0959	hypothetical protein
9,99	8,35	9,17	1,63	tRNA-Met	
7,93	6,31	7,12	1,62	emrA	tripartite multidrug resistance system membrane fusion protein
3,4	1,81	2,61	1,59	SMD_0360	hypothetical protein
1,54	-0,05	0,75	1,59	trbJ	Conjugative transfer protein TrbJ
8,44	6,86	7,65	1,58	SMD_3130	Serine protease MucD%2FAlgY associated with sigma factor RpoE
4,79	3,23	4,01	1,56	SMD_1697	Pirin
7,29	5,75	6,52	1,55	SMD_1359	tripartite multidrug resistance system outer membrane protein
8,82	7,28	8,05	1,54	htpG	chaperone protein HtpG
1,4	-0,14	0,63	1,54	SMD_2508	flp pilus assembly protein RcpC%2FCpaB
8,56	7,11	7,84	1,45	rpoE	RNA polymerase sigma factor RpoE
7,99	6,59	7,29	1,4	emrB	tripartite multidrug resistance system inner membrane protein
1,79	0,42	1,11	1,37	trbF	Conjugative transfer protein TrbF
3,07	1,71	2,39	1,37	SMD_1111	hypothetical protein
3,05	1,69	2,37	1,37	SMD_1303	hypothetical protein
2,92	1,55	2,23	1,37	SMD_1543	hypothetical protein
2,26	0,89	1,57	1,37	SMD_1686	ECF sigma factor
1,78	0,41	1,09	1,37	SMD_2200	hypothetical protein
1,06	-0,31	0,38	1,37	gspL	General secretion pathway protein L
5,83	4,45	5,14	1,37	SMD_2488	oxidoreductase SMc00968
1,34	-0,03	0,65	1,37	SMD_2501	hypothetical protein
1,49	0,12	0,81	1,37	X	phage-related tail protein
3,37	2,01	2,69	1,37	SMD_3292	hypothetical protein
0,83	-0,54	0,14	1,36	SMD_1548	Plasmid-related protein
10,8	9,48	10,14	1,32	dnaK	chaperone protein DnaK
8,19	6,91	7,55	1,27	hslV	ATP-dependent protease HslV
3,43	2,19	2,81	1,24	SMD_0067	hypothetical protein
3,38	2,14	2,76	1,24	SMD_1149	Phosphoribosyl-dephospho-CoA transferase
5,16	3,92	4,54	1,24	nrdF	ribonucleotide reductase of class Ia aerobic%2Cbeta subunit
6,1	4,89	5,5	1,21	msrB	peptide methionine sulfoxide reductase MsrB
3,97	2,78	3,37	1,2	SMD_3299	hypothetical protein
8,29	7,11	7,7	1,18	clpB	clpB protein
7,32	6,15	6,73	1,17	SMD_2129	cointegrate resolution protein T
1,48	0,31	0,9	1,17	SMD_2214	LmbE-like protein
4,71	3,54	4,12	1,17	SMD_3298	hypothetical protein
8,69	7,52	8,1	1,17	hslU	ATP-dependent hsl protease ATP-binding subunit HslU
2,43	1,26	1,85	1,17	SMD_3750	inner membrane protein YqjF
4,55	3,41	3,98	1,14	SMD_2443	hypothetical protein
5,39	4,24	4,81	1,14	tRNA-Ser	

3,35	2,21	2,78	1,13	SMD_1908	major facilitator superfamily permease
5,31	4,18	4,74	1,13	SMD_4203	marR family transcriptional regulator
6,97	5,84	6,4	1,12	glnA	glutamine synthetase
9,37	8,26	8,81	1,11	grpE	heat shock protein GrpE
9,49	8,38	8,94	1,11	dnaJ	chaperone protein DnaJ
4,14	3,04	3,59	1,1	C4.11	
8,46	7,36	7,91	1,1	tRNA-Lys	
2,43	1,33	1,88	1,1	SMD_1572	hypothetical protein
3,55	2,45	3	1,1	SMD_2931	hypothetical protein
7,78	6,7	7,24	1,08	SMD_1751	Zn-dependent hydrolases%2C including glyoxylases
5,73	4,65	5,19	1,08	SMD_2221	hypothetical protein
4,96	3,89	4,43	1,07	SMD_2692	N-formylglutamate deformylase
8,43	7,35	7,89	1,07	yybP-ykoY	
7,93	6,88	7,4	1,05	SMD_3335	hypothetical protein
0,97	-0,08	0,45	1,04	SMD_1571	hypothetical protein
5,38	4,33	4,86	1,04	SMD_2499	merR family transcriptional regulator
4,9	3,87	4,39	1,04	SMD_3710	G:T%2FU mismatch-specific uracil%2Fthymine DNA-glycosylase
5,18	4,15	4,66	1,03	SMD_2188	TetR family transcriptional regulator
10,52	9,51	10,02	1,01	SMD_0137	hypothetical protein
6,08	7,09	6,58	-1,01	SMD_1255	DegT%2FDnrJ%2FEryC1%2FStrS aminotransferase
0,45	1,46	0,96	-1,01	SMD_1544	Plasmid related protein
5,8	6,81	6,31	-1,01	flgC	flagellar basal-body rod protein FlgC
4,86	5,87	5,37	-1,01	SMD_2150	superfamily I DNA%2FRNA helicase protein
1,84	2,85	2,35	-1,01	SMD_2195	hypothetical protein
4,1	5,11	4,61	-1,01	SMD_2313	macrolide-specific efflux protein MacA
5,55	6,58	6,07	-1,02	SMD_0040	hypothetical protein
6,31	7,33	6,82	-1,02	SMD_0203	hypothetical protein
1,82	2,84	2,33	-1,02	SMD_3985	TonB-dependent receptor
3,2	4,23	3,71	-1,03	SMD_0894	lipoprotein
2,86	3,89	3,38	-1,03	SMD_2149	LuxR family two component transcriptional regulator
4,84	5,88	5,36	-1,05	SMD_0201	cAMP-binding proteins-catabolite gene activator and regulatory subunit of cAMP-dependent protein kinases
0,67	1,72	1,19	-1,05	SMD_0905	PE-PGRS FAMILY PROTEIN
6,61	7,68	7,15	-1,06	SMD_2072	hypothetical protein
5,95	7	6,47	-1,06	oprP	phosphate-specific outer membrane porin OprP Pyrophosphate-specific outer membrane porin OprO
2,7	3,78	3,24	-1,07	kdpC	potassium-transporting ATPase subunit C
4,86	5,93	5,4	-1,07	pilJ	pilus biogenesis protein
4,9	5,98	5,44	-1,08	SMD_0202	adenylate cyclase
4,62	5,7	5,16	-1,08	SMD_2317	hypothetical protein
3,89	4,98	4,43	-1,09	tRNA-Leu	
1,92	3,01	2,46	-1,09	tnpA2	
1,68	2,77	2,23	-1,09	copC2	Copper resistance protein C precursor
1,57	2,66	2,12	-1,09	SMD_2667	hypothetical protein
1,44	2,53	1,99	-1,09	SMD_3572	Universal stress protein family
2,28	3,38	2,83	-1,09	SMD_3753	Secreted and surface protein containing fasciclin-like repeats
1,31	2,4	1,86	-1,09	SMD_3967	TonB-dependent receptor
4,41	5,51	4,96	-1,1	flgA	flagellar basal-body P-ring formation protein FlgA
0,93	2,04	1,48	-1,12	SMD_0895	hypothetical protein
6,2	7,32	6,76	-1,12	smeZ	RND efflux system%2C inner membrane transporter CmeB
4,69	5,81	5,25	-1,12	SMD_3562	hypothetical protein
3,71	4,84	4,27	-1,13	SMD_4054	hypothetical protein
8,89	10,04	9,47	-1,15	SMD_0456	hypothetical protein
7,8	8,95	8,37	-1,15	SMD_0457	hypothetical protein
3,04	4,19	3,61	-1,15	SMD_2335	hypothetical protein
1,22	2,37	1,8	-1,15	O	phage capsid scaffolding protein
3,04	4,21	3,62	-1,17	smeU2	short-chain dehydrogenase%2Freductase
2,74	3,92	3,33	-1,17	SMD_2312	macrolide export ATP-binding%2Fpermease MacB
3,3	4,47	3,88	-1,18	SMD_0250	phage tail assembly protein
3,54	4,73	4,14	-1,19	SMD_0252	phage tail fiber protein
3,33	4,55	3,94	-1,22	SMD_0246	hypothetical protein

1,03	2,25	1,64	-1,22	msrA	peptide methionine sulfoxide reductase MsrA
-0,43	0,78	0,17	-1,22	SMD_0890	plasmid stabilization protein
0,44	1,66	1,05	-1,22	SMD_0956	hypothetical protein
-0,39	0,83	0,22	-1,22	SMD_1137	signal peptide protein
-0,1	1,12	0,51	-1,22	SMD_1612	hypothetical protein
-0,54	0,68	0,07	-1,22	SMD_2277	hypothetical protein
-0,03	1,19	0,58	-1,22	SMD_2279	hypothetical protein
0,15	1,37	0,76	-1,22	SMD_2290	RebB protein
-0,1	1,12	0,51	-1,22	SMD_2363	hypothetical protein
0,72	1,94	1,33	-1,22	SMD_2415	hypothetical protein
-0,14	1,08	0,47	-1,22	SMD_2526	hypothetical protein
1,01	2,22	1,61	-1,22	SMD_2547	MgtC%2FSapB transporter
4,98	6,2	5,59	-1,22	SMD_3160	hypothetical protein
-0,25	0,97	0,36	-1,22	W	phage baseplate assembly protein
0,48	1,7	1,09	-1,22	SMD_3609	hypothetical protein
4,36	5,57	4,96	-1,22	SMD_3725	methyl-accepting chemotaxis protein I serine chemoreceptor protein
5,48	6,71	6,1	-1,24	SMD_4079	chemotaxis protein
8,48	9,72	9,1	-1,25	mtnX	2-hydroxy-3-keto-5-methylthiopentenyl-1-phosphatephosphatase related protein
6,35	7,61	6,98	-1,26	SMD_3161	methyl-accepting chemotaxis protein I serine chemoreceptor protein
3,27	4,53	3,9	-1,27	SMD_2421	hypothetical protein
5,1	6,37	5,74	-1,27	SMD_3236	chemotaxis response regulator containing a CheY-like receiver domain and a methylesterase domain
3,1	4,38	3,74	-1,28	SMD_2655	hypothetical protein
0,75	2,05	1,4	-1,3	SMD_2294	hypothetical protein
4,35	5,67	5,01	-1,32	tolA	TolA protein
7,13	8,45	7,79	-1,32	SMD_0614	hypothetical protein
2,61	3,93	3,27	-1,32	SMD_1124	general stress protein
3,07	4,4	3,73	-1,32	SMD_3671	hypothetical protein
-0,45	0,92	0,24	-1,37	B	phage capsid and scaffold
8,87	10,26	9,56	-1,39	pilA	type IV pilin PilA
0,21	1,62	0,91	-1,41	SMD_1607	peptidase S14%2C ClpP
3,15	4,58	3,87	-1,43	SMD_0251	phage tail assembly protein I
3,44	4,87	4,15	-1,43	SMD_0680	hemin transport protein
-0,19	1,25	0,53	-1,44	SMD_1549	hypothetical protein
1,64	3,08	2,36	-1,44	SMD_2304	hypothetical protein
-0,7	0,74	0,02	-1,44	SMD_2308	F420-dependent glucose-6-phosphate dehydrogenase
-0,52	0,92	0,2	-1,44	SMD_2310	Oxidoreductase
1,88	3,32	2,6	-1,44	SMD_2394	hypothetical protein
-0,51	0,94	0,21	-1,44	gspK	General secretion pathway protein K
5,27	6,75	6,01	-1,48	pstS	phosphate ABC transporter%2C periplasmic phosphate-binding protein PstS TC 3.A.1.7.1
2,5	3,99	3,25	-1,48	SMD_1592	hypothetical protein
-0,21	1,27	0,53	-1,48	P	phage terminase%2C ATPase subunit
3,2	4,7	3,95	-1,5	SMD_3017	phage protein
2,48	3,99	3,24	-1,52	phoU	phosphate transport system regulatory protein PhoU
0,91	2,45	1,68	-1,54	SMD_1603	hypothetical protein
4,35	5,94	5,14	-1,6	SMD_1156	Histone acetyltransferase HPA2 and related acetyltransferases
2,99	4,62	3,8	-1,63	SMD_0253	hypothetical protein
0,7	2,34	1,52	-1,63	SMD_0955	hypothetical protein
-0,01	1,62	0,8	-1,63	SMD_1596	hypothetical protein
0,31	1,94	1,13	-1,63	SMD_1597	hypothetical protein
0,43	2,06	1,25	-1,63	SMD_1600	hypothetical protein
1,51	3,14	2,33	-1,63	SMD_2245	hypothetical protein
0,17	1,8	0,98	-1,63	SMD_2288	RebB protein
0,36	1,99	1,17	-1,63	SMD_2291	hypothetical protein
-0,15	1,48	0,67	-1,63	gspl	General secretion pathway protein I
-0,04	1,59	0,77	-1,63	SMD_2513	type II secretion system protein
3,73	5,44	4,58	-1,7	SMD_0254	hypothetical protein
0,98	2,73	1,85	-1,75	SMD_2515	hypothetical protein
0,03	1,83	0,93	-1,8	SMD_2396	Ferric siderophore transport system%2C periplasmic binding protein TonB

2,45	4,28	3,37	-1,83	SMD_3363	hypothetical protein
1,12	2,98	2,05	-1,86	SMD_0433	hypothetical protein
1,04	2,92	1,98	-1,88	SMD_2292	hypothetical protein
-0,47	1,48	0,51	-1,95	SMD_2278	hypothetical protein
0,53	2,48	1,51	-1,96	SMD_0891	hypothetical protein
-1,59	0,37	-0,61	-1,96	SMD_1520	hypothetical protein
-1,55	0,41	-0,57	-1,96	copD2	Copper resistance protein D
0,05	2	1,03	-1,96	smmB	hypothetical protein
2,66	4,66	3,66	-2	pstA	phosphate transport system permease protein PstA TC 3.A.1.7.1
0,36	2,42	1,39	-2,07	SMD_0442	major facilitator family transporter
0,72	2,81	1,76	-2,09	mgtC	Mg2 transport ATPase protein C
-1,53	0,69	-0,42	-2,22	SMD_1575	chromosome partitioning ATPase in PFGI-1-like cluster%2C ParA-like
-0,96	1,26	0,15	-2,22	SMD_2213	type 12 methyltransferase
0,18	2,4	1,29	-2,22	SMD_2289	RebB protein
1,13	3,35	2,24	-2,22	smmC	heavy metal RND efflux outer membrane protein%2CCzcC family
3,32	5,59	4,45	-2,26	pstC	phosphate transport system permease protein PstC TC 3.A.1.7.1
3,49	5,8	4,65	-2,31	dctA	C4-dicarboxylate transport protein
-1,45	0,99	-0,23	-2,44	SMD_0111	
-1,58	0,86	-0,36	-2,44	SMD_1551	periplasmic protein TonB%2C links inner and outer membranes
-0,15	2,29	1,07	-2,44	SMD_1594	hypothetical protein
-1,73	0,72	-0,51	-2,44	SMD_1687	FecR protein
-0,27	2,17	0,95	-2,44	SMD_3277	hypothetical protein
2,43	5,02	3,72	-2,59	pstB	phosphate transport ATP-binding protein PstB TC 3.A.1.7.1
-0,85	1,78	0,47	-2,63	SMD_2506	prepilin peptidase transmembrane protein
2,34	5,23	3,79	-2,9	SMD_2330	hypothetical protein
-0,4	2,56	1,08	-2,95	GpU	phage-related tail protein
-1,1	1,99	0,44	-3,09	SMD_2559	DSBA oxidoreductase
-0,75	2,34	0,8	-3,09	Fli	major tail tube protein
1,51	4,82	3,17	-3,3	mgtA	Mg2 transport ATPase%2C P-type
1,62	5,81	3,71	-4,19	SMD_3053	hypothetical protein
-13,29	-0,74	-7,01	-12,55	SMD_1563	hypothetical protein
-13,29	-0,55	-6,92	-12,74	SMD_1562	hypothetical protein
-13,29	-0,46	-6,87	-12,83	SMD_1136	DoxX family protein
-13,29	-0,15	-6,72	-13,14	SMD_1553	hypothetical protein
-13,29	-0,13	-6,71	-13,15	SMD_2264	hypothetical protein
-13,29	0,12	-6,58	-13,41	SMD_1545	hypothetical protein
-13,29	0,52	-6,38	-13,81	SMD_1611	hypothetical protein
-13,29	0,56	-6,36	-13,85	SMD_1519	hypothetical protein
-13,29	1,03	-6,13	-14,32	5SrRNA	
-13,29	1,12	-6,08	-14,41	SMD_1609	phage capsid and scaffold
-13,29	1,31	-5,99	-14,6	C4.13	
-13,29	1,42	-5,93	-14,71	SMD_1123	hypothetical protein
-13,29	1,59	-5,85	-14,87	SMD_2284	bacteriocin resistance protein
-13,29	1,78	-5,75	-15,07	SMD_1610	hypothetical protein

^a Expresados como logaritmo de RPKM (Lecturas por kb por millón)

^b Promedio de las casillas RPKM D457 y RPKM FSV46

^c Relación entre las casillas RPKM D457 y RPKM FSV46 (se representan sólo los genes que este valor es mayor que 1 o menor que -1)

En rojo se señalan los genes sobreexpresados y en verde los genes expresados en menor nivel en FSV46 seleccionados para confirmar por RT-qPCR.

Tabla 16. Transcriptoma G3.F1.5.

Expresión D457 ^a	Expresión G3.F1.5 ^a	G3.F1.5 /D457 ^b	Nombre	Producto CDS
5	142	28,40	tRNA-Ser	Ser tRNA
22517	314825	13,98	tmRNA	-
3	41	13,67	tRNA-Ser	Ser tRNA
1	11	11,00	SMD_0360	hypothetical protein
1	11	11,00	SMD_1516	type IV secretory pathway, VirB4 components
11	118	10,73	blaI	transcriptional repressor, BlaI/MecI family
2	21	10,50	C4.11	-
84	854	10,17	thiS	sulfur carrier protein ThiS
6	54	9,00	SMD_1126	ArsR family transcriptional regulator
4	35	8,75	SMD_2555	Lactoylglutathione lyase and related lyases
1	8	8,00	5SrRNA	5S ribosomal RNA
1	8	8,00	5SrRNA	5S ribosomal RNA
4	28	7,00	SMD_2930	hypothetical protein
2	14	7,00	SMD_1908	major facilitator superfamily permease
1	7	7,00	SMD_1525	candidate type III effector Hop protein
1	7	7,00	SMD_2171	hypothetical protein
1	7	7,00	SMD_3750	inner membrane protein YqjF
11422	71312	6,24	ssrS	-
14	84	6,00	tRNA-Pro	Pro tRNA
1	6	6,00	SMD_1116	nucleoside permease NupG
1	6	6,00	SMD_1524	hypothetical protein
1	6	6,00	SMD_2269	endonuclease
1	6	6,00	mgtC	Mg(2) transport ATPase protein C
1	6	6,00	SMD_2926	hypothetical protein
1	6	6,00	SMD_3971	hypothetical protein
6	35	5,83	SMD_3215	hydrolase
31718	184139	5,81	rnpB	-
18	95	5,28	SMD_3268	hypothetical protein
12	62	5,17	SMD_2499	merR family transcriptional regulator
13	67	5,15	lctP	L-lactate permease
3	15	5,00	SMD_1277	hypothetical protein
1	5	5,00	SMD_1598	hypothetical protein
1	5	5,00	smeU1	short chain dehydrogenase
1	5	5,00	SMD_2263	hypothetical protein
1	5	5,00	SMD_2328	hypothetical protein
1	5	5,00	SMD_2357	zinc-binding protein
1	5	5,00	SMD_2462	hypothetical protein
16	75	4,69	SMD_1753	ArsR family transcriptional regulator
5	23	4,60	SMD_1515	protein-disulfide isomerase
18	81	4,50	hutI	Imidazolonepropionase
4	18	4,50	SMD_3788	hypothetical protein
2	9	4,50	SMD_2505	flp/Fap pilin component
3	13	4,33	SMD_2211	BLUF domain containing protein
3	13	4,33	SMD_3302	hypothetical protein
3	13	4,33	SMD_3727	peptidase S41
16	69	4,31	msrB	peptide methionine sulfoxide reductase MsrB
34	144	4,24	SMD_1848	transcriptional regulator for fatty acid degradation FadQ, TetR family
15	63	4,20	SMD_2488	oxidoreductase SMc00968
21	85	4,05	tRNA-Glu	Glu tRNA
9	36	4,00	lytT	regulatory protein
2	8	4,00	SMD_2245	hypothetical protein
1	4	4,00	SMD_0066	DNA topoisomerase IB (poxvirus type)
1	4	4,00	SMD_0441	beta-lactamase class C and other penicillin binding proteins
1	4	4,00	SMD_0577	outer membrane protein
1	4	4,00	SMD_0901	type IV secretory pathway, protease TraF
1	4	4,00	SMD_0905	PE-PGRS FAMILY PROTEIN
1	4	4,00	SMD_2207	protein yciE
1	4	4,00	xynB	beta-xylosidase

1	4	4,00	SMD_2264	hypothetical protein
1	4	4,00	SMD_2369	short-chain type dehydrogenase/reductase
1	4	4,00	gspG	General secretion pathway protein G
1	4	4,00	SMD_2658	hypothetical protein
1	4	4,00	R	phage tail protein
1	4	4,00	cblA	alpha-fimbriae major subunit
1	4	4,00	SMD_3954	ISStmaD3 transposase B
28	111	3,96	prlC	oligopeptidase A
7	27	3,86	SMD_0056	hypothetical protein
19	73	3,84	SMD_4110	hypothetical protein
23	88	3,83	SMD_0445	Lytic transglycosylase
11	42	3,82	SMD_3963	hypothetical protein
1217	4611	3,79	groES	heat shock protein 60 family co-chaperone GroES
4	15	3,75	SMD_0452	hypothetical protein
31	116	3,74	tRNA-Lys	Lys tRNA
3	11	3,67	SMD_0518	inosine-uridine preferring nucleoside hydrolase
3	11	3,67	SMD_1149	Phosphoribosyl-dephospho-CoA transferase
3	11	3,67	SMD_3690	hypothetical protein
3	11	3,67	C4.7	-
44	161	3,66	SMD_2129	cointegrate resolution protein T
5	18	3,60	C4.12	-
5	18	3,60	SMD_1344	Sigma-fimbriae tip adhesin
9	32	3,56	SMD_1000	GntR family transcriptional regulator domain / Aspartate aminotransferase
11	39	3,55	SMD_0656	autolysin sensor kinase
28	98	3,50	SMD_1936	AraC family transcriptional regulator
6	21	3,50	fdnI	formate dehydrogenase O subunit gamma
4	14	3,50	SMD_1932	transmembrane protein
2	7	3,50	SMD_0067	hypothetical protein
2	7	3,50	SMD_0762	Sensory box/GGDEF family protein
2	7	3,50	SMD_1774	cytochrome P450
452	1568	3,47	tRNA-Val	Val tRNA
11	38	3,45	SMD_1117	inosose isomerase
36	124	3,44	SMD_0045	Sel1-like repeat
7	24	3,43	SMD_2446	AraC family transcriptional regulator
12	41	3,42	tRNA-Ser	Ser tRNA
8	27	3,38	SMD_0462	hypothetical protein
43	142	3,30	SMD_1060	hypothetical protein
77	254	3,30	SMD_3335	hypothetical protein
34	111	3,26	SMD_1660	hypothetical protein
4	13	3,25	SMD_3731	major facilitator superfamily permease
22	71	3,23	SMD_3825	hypothetical protein
54	174	3,22	SMD_0560	hypothetical protein
1879	5936	3,16	groEL	heat shock protein 60 family chaperone GroEL
26	82	3,15	tRNA-Gln	Gln tRNA
61	191	3,13	SMD_1744	hypothetical protein
9	28	3,11	SMD_2275	glycine cleavage system transcriptional activator
9	28	3,11	SMD_3710	G:T/U mismatch-specific uracil/thymine DNA-glycosylase
38	118	3,11	hrcA	heat-inducible transcription repressor HrcA
59	182	3,08	msrA2	peptide methionine sulfoxide reductase MsrA
18	55	3,06	SMD_3579	transcriptional regulator
19	58	3,05	soxR	Redox-sensitive transcriptional activator SoxR
42	127	3,02	SMD_3584	TetR family transcriptional regulator
11	33	3,00	SMD_0657	two-component response regulator
6	18	3,00	yjbJ	protein YjbJ
5	15	3,00	SMD_1363	transcriptional regulator
4	12	3,00	SMD_1138	Thiol-disulfide isomerase and thioredoxins
4	12	3,00	SMD_1573	protein with ParB-like nuclease domain in PFGI-1-like cluster
3	9	3,00	SMD_0020	hypothetical protein
3	9	3,00	mls	malate synthase
3	9	3,00	5SrRNA	5S ribosomal RNA
2	6	3,00	SMD_1902	Outer membrane protein romA

2	6	3,00	SMD_2194	hypothetical protein
2	6	3,00	SMD_2342	hypothetical protein
2	6	3,00	SMD_2667	hypothetical protein
2	6	3,00	SMD_2697	hypothetical protein
2	6	3,00	SMD_3162	ErfK/YbiS/YcfS/YnhG family protein
2	6	3,00	SMD_4223	transcriptional regulator
1	3	3,00	SMD_0194	hypothetical protein
1	3	3,00	5SrRNA	5S ribosomal RNA
1	3	3,00	msrA	peptide methionine sulfoxide reductase MsrA
1	3	3,00	SMD_0907	hypothetical protein
1	3	3,00	SMD_0952	type II/IV secretion system ATP hydrolase TadA/VirB11/CpaF, TadA subfamily
1	3	3,00	SMD_1522	hypothetical protein
1	3	3,00	SMD_1541	superfamily II DNA/RNA helicases, SNF2 family
1	3	3,00	SMD_1572	hypothetical protein
1	3	3,00	SMD_1686	ECF sigma factor
1	3	3,00	ssuE	FMN reductase
1	3	3,00	SMD_1897	peptidase M20D, amidohydrolase
1	3	3,00	SMD_1901	hypothetical protein
				cyclopropane-fatty-acyl-phospholipid synthase-like protein, clusters with
1	3	3,00	SMD_2152	FIG005069
1	3	3,00	SMD_2209	cheY-like receiver
1	3	3,00	SMD_2212	glycosyl transferase, group 2 family protein
1	3	3,00	SMD_2267	ABC transporter ATP-binding protein
1	3	3,00	SMD_2285	hypothetical protein
1	3	3,00	SMD_2429	Aerotaxis sensor receptor protein
1	3	3,00	SMD_2507	flp pilus assembly protein TadG
1	3	3,00	SMD_3278	hypothetical protein
1	3	3,00	SMD_3300	hypothetical protein
1	3	3,00	SMD_3569	tripartite multidrug resistance system membrane fusion protein
396	1177	2,97	tRNA-Met	Met tRNA
16	47	2,94	hemD	uroporphyrinogen-III synthase
14	41	2,93	SMD_4085	hypothetical protein
118	345	2,92	htpG	chaperone protein HtpG
				2-polyprenyl-6-methoxyphenol hydroxylase and related FAD-dependent
25	73	2,92	SMD_2652	oxidoreductases
213	619	2,91	grpE	heat shock protein GrpE
39	113	2,90	SMD_1887	TetR family transcriptional regulator
9	26	2,89	SMD_0073	hypothetical protein
15	43	2,87	qnrR	DeoR family transcriptional regulator SmQnrR
39	111	2,85	SMD_1469	Low molecular weight protein tyrosine phosphatase
13	37	2,85	SMD_1878	hypothetical protein
55	156	2,84	exbD5	biopolymer transport protein ExbD/ToIR
48	136	2,83	SMD_1903	TetR family transcriptional regulator
61	172	2,82	SMD_3120	2-hydroxychromene-2-carboxylate isomerase/DsbA-like thioredoxin domain
11	31	2,82	SMD_2925	LuxR family two component transcriptional regulator
5	14	2,80	SMD_1125	hypothetical protein
28	78	2,79	SMD_1283	TetR family transcriptional regulator
113	313	2,77	SMD_0714	hypothetical protein
711	1966	2,77	sodA	manganese superoxide dismutase
238	655	2,75	yqgE	hypothetical protein
8	22	2,75	SMD_1576	transcriptional regulator
8	22	2,75	SMD_2191	AraC family transcriptional regulator
4	11	2,75	glnB	nitrogen regulatory protein P-II
4	11	2,75	aceA	Isocitrate lyase
4	11	2,75	SMD_1882	monooxygenase
179	492	2,75	Glycine.3	-
35	96	2,74	SMD_0089	hypothetical protein
7	19	2,71	SMD_2400	hypothetical protein
16	43	2,69	SMD_2390	LysR family transcriptional regulator
27	72	2,67	pntAb	NAD(P) transhydrogenase subunit alpha
12	32	2,67	SMD_3411	Ferric siderophore transport system, periplasmic binding protein TonB

3	8	2,67	SMD_0655	alpha/beta hydrolase
3	8	2,67	SMD_2201	protein yciF
3	8	2,67	SMD_4195	hypothetical protein
56	149	2,66	SMD_2023	hypothetical protein
29	77	2,66	dld	D-Lactate dehydrogenase
14	37	2,64	SMD_2689	formiminoglutamic iminohydrolase
43	113	2,63	wrbA	Trp repressor binding protein
8	21	2,63	SMD_1561	hypothetical protein
824	2162	2,62	tRNA-Ala	Ala tRNA
37	97	2,62	SMD_3266	prophage LambdaSo, lysozyme
21	55	2,62	SMD_1409	glutamine amidotransferase
529	1378	2,60	tRNA-Arg	Arg tRNA
25	65	2,60	SMD_1357	AraC family transcriptional regulator
5	13	2,60	gip	Hydroxypyruvate isomerase
5	13	2,60	SMD_2241	Tryptophan halogenase
5	13	2,60	SMD_3598	M23/M37 family peptidase
5	13	2,60	SMD_3862	Isocitrate dehydrogenase kinase/phosphatase
124	322	2,60	hslU	ATP-dependent hsl protease ATP-binding subunit HslU
32	83	2,59	lctD	L-lactate dehydrogenase
454	1176	2,59	tRNA-Arg	Arg tRNA
471	1218	2,59	tRNA-Gln	Gln tRNA
7	18	2,57	SMD_3972	hypothetical protein
37	95	2,57	SMD_3872	N-acyl-L-amino acid amidohydrolase
71	182	2,56	SMD_1638	hypothetical protein
45	115	2,56	selD	Selenide,water dikinase
31	79	2,55	SMD_3020	hypothetical protein
93	236	2,54	clpB	clpB protein
28	71	2,54	fdhE	formate dehydrogenase formation protein FdhE
44	111	2,52	SMD_2719	hypothetical protein
124	312	2,52	SMD_0935	SAM-dependent methyltransferase
14	35	2,50	SMD_2995	hypothetical protein
6	15	2,50	SMD_4136	translation initiation inhibitor, yjgF family
2	5	2,50	SMD_0036	hypothetical protein
2	5	2,50	SMD_0960	hypothetical protein
2	5	2,50	SMD_1303	hypothetical protein
2	5	2,50	SMD_1895	luciferase family protein YtmO, in cluster with L-cystine ABC transporter
2	5	2,50	SMD_2246	6-aminohexanoate-dimer hydrolase
2	5	2,50	SMD_2290	RebB protein
2	5	2,50	SMD_2383	signal transduction histidine kinase
2	5	2,50	SMD_2445	abhydrolase, alpha/beta hydrolase fold
2	5	2,50	SMD_4000	maltodextrin glucosidase
2	5	2,50	SMD_4194	hypothetical protein
79	197	2,49	tRNA-seC	Sec tRNA
23	57	2,48	SMD_3887	transmembrane protein
19	47	2,47	SMD_3807	marR family transcriptional regulator
45	111	2,47	SMD_1506	integrase
15	37	2,47	SMD_2518	hypothetical protein
15	37	2,47	SMD_3631	hypothetical protein
36	88	2,44	tRNA-Leu	Leu tRNA
9	22	2,44	SMD_1825	LysR family transcriptional regulator YeiE
21	51	2,43	lctR	Lactate-responsive regulator LldR in Enterobacteria, GntR family
7	17	2,43	SMD_1157	LysR family transcriptional regulator
139	336	2,42	glnB3	nitrogen regulatory protein P-II
96	232	2,42	SMD_2932	subtilisin-like serine proteases
46	111	2,41	SMD_3267	hypothetical protein
95	228	2,40	hslV	ATP-dependent protease HslV
5	12	2,40	SMD_2352	hypothetical protein
51	122	2,39	hslO	33 kDa chaperonin (Heat shock protein 33) (HSP33)
31	74	2,39	SMD_1591	hypothetical protein
8	19	2,38	SMD_1428	DeoR family transcriptional regulator
8	19	2,38	SMD_2208	hypothetical protein

8	19	2,38	SMD_2443	hypothetical protein
11	26	2,36	SMD_3671	hypothetical protein
471	1111	2,36	dnaK	chaperone protein DnaK
24	56	2,33	SMD_0743	hypothetical protein
21	49	2,33	SMD_0634	hypothetical protein
12	28	2,33	SMD_2533	LysR family transcriptional regulator
9	21	2,33	SMD_4002	ROK domain containing protein
6	14	2,33	SMD_2471	Coenzyme F420-dependent N5,N10-methylene tetrahydromethanopterin reductase and related flavin-dependent oxidoreductases
3	7	2,33	SMD_1115	oxidoreductase domain-containing protein
3	7	2,33	SMD_2237	periplasmic beta-glucosidase
3	7	2,33	SMD_3573	hypothetical protein
3	7	2,33	smeA	membrane fusion protein of RND family multidrug efflux pump
1471	3431	2,33	tRNA-Ala	Ala tRNA
927	2151	2,32	tRNA-Ala	Ala tRNA
19	44	2,32	SMD_3137	Pirin
57	131	2,30	SMD_3415	HigA protein (antitoxin to HigB)
64	147	2,30	kdsB	3-deoxy-manno-octulosonate cytidyltransferase
217	496	2,29	SMD_3464	hypothetical protein
21	48	2,29	SMD_0270	ISStmaD1 Transposase A
21	48	2,29	SMD_2712	LysR family transcriptional regulator
7	16	2,29	SMD_0915	hypothetical protein
74	169	2,28	SMD_0060	zinc metalloprotease
18	41	2,28	SMD_2694	beta-lactamase
18	41	2,28	SMD_3262	response regulator
18	41	2,28	SMD_3824	glycine cleavage system transcriptional activator
11	25	2,27	SMD_3585	LysR family transcriptional regulator
11	25	2,27	SMD_3966	hypothetical protein
11	25	2,27	SMD_4111	RNA polymerase ECF-type sigma factor
79	179	2,27	SMD_2647	hypothetical protein
39	88	2,26	ribA	3,4-dihydroxy-2-butanone 4-phosphate synthase
16	36	2,25	cytR	transcriptional (co)regulator CytR
8	18	2,25	SMD_2619	HxlR family transcriptional regulator
8	18	2,25	SMD_3095	RNA polymerase ECF-type sigma factor
4	9	2,25	SMD_2270	hypothetical protein
4	9	2,25	SMD_3217	hypothetical protein
133	299	2,25	SMD_0942	3-deoxy-D-manno-octulosonic acid kinase
55	123	2,24	SMD_4094	hypothetical protein
17	38	2,24	SMD_0157	hypothetical protein
17	38	2,24	SMD_2953	hypothetical protein
43	96	2,23	SMD_0240	hypothetical protein
26	58	2,23	SMD_2381	hypothetical protein
2129	4726	2,22	tRNA-Ala	Ala tRNA
121	267	2,21	SMD_2600	hypothetical protein
25	55	2,20	SMD_2435	hypothetical protein
15	33	2,20	SMD_3799	endonuclease containing a URI domain
5	11	2,20	ctaD	cytochrome c oxidase polypeptide I
5	11	2,20	SMD_0391	beta-lactamase
5	11	2,20	SMD_0948	hypothetical protein
5	11	2,20	aptA	Adenosylmethionine-8-amino-7-oxononanoate aminotransferase
5	11	2,20	entA	2,3-dihydro-2,3-dihydroxybenzoate dehydrogenase
11	24	2,18	pntB	NAD(P) transhydrogenase subunit beta
11	24	2,18	phoB2	winged helix family two component transcriptional regulator
11	24	2,18	hisG	ATP phosphoribosyltransferase
18	39	2,17	SMD_3073	hypothetical protein
12	26	2,17	SMD_1247	LysE family transporter
12	26	2,17	SMD_3921	Serine/threonine protein kinase
6	13	2,17	SMD_0145	hypothetical protein
6	13	2,17	SMD_1009	short chain dehydrogenase
25	54	2,16	SMD_1821	hypothetical protein
46	99	2,15	SMD_1981	two-component response regulator

7	15	2,14	SMD_0389	hypothetical protein
113	242	2,14	SMD_3269	hypothetical protein
38	81	2,13	SMD_4169	GMP synthase
154	328	2,13	SMD_2791	hesA/MoeB/ThiF family protein
85	181	2,13	SMD_2350	TetR family transcriptional regulator
62	132	2,13	SMD_1777	hypothetical protein
16	34	2,13	SMD_0228	transcriptional regulator
8	17	2,13	SMD_3947	lipoprotein
41	87	2,12	SMD_1962	Copper chaperone
43	91	2,12	SMD_1236	hypothetical protein
18	38	2,11	SMD_1353	Na()/H() antiporter
9	19	2,11	actP	Lead, cadmium, zinc and mercury transporting ATPase
9	19	2,11	SMD_4154	hypothetical protein
29	61	2,10	SMD_1803	hypothetical protein
29	61	2,10	SMD_2645	merR family transcriptional regulator
29	61	2,10	SMD_3822	glyoxalase bifunctional protein: zinc-containing alcohol dehydrogenase quinone
31	65	2,10	SMD_0828	oxidoreductase (NADPH:quinone reductase)
21	44	2,10	SMD_3830	hypothetical protein
77	161	2,09	SMD_3130	Serine protease MucD/AlgY associated with sigma factor RpoE
11	23	2,09	SMD_0725	Regulatory protein, LysR:LysR,substrate-binding
11	23	2,09	SMD_1886	AraC family transcriptional regulator
125	261	2,09	SMD_0650	peptidase
85	177	2,08	SMD_3827	TetR family transcriptional regulator
112	233	2,08	SMD_0881	hypothetical protein
543	1123	2,07	SMD_0137	hypothetical protein
89	184	2,07	SMD_2921	HNH endonuclease family protein
15	31	2,07	tRNA-Leu	Leu tRNA
31	64	2,06	rseA	Sigma factor RpoE negative regulatory protein RseA
16	33	2,06	SMD_2556	AraC family transcriptional regulator
18	37	2,06	SMD_3809	DNA-binding response regulator
74	152	2,05	SMD_2382	hypothetical protein
56	115	2,05	thiD	phosphomethylpyrimidine kinase
45	92	2,04	SMD_2907	serine/threonine kinase
23	47	2,04	SMD_1783	hypothetical protein
356	726	2,04	SMD_0260	hypothetical protein
28	57	2,04	SMD_2644	MFS transporter
62	126	2,03	yfiF	tRNA/rRNA methyltransferase
68	138	2,03	SMD_1751	Zn-dependent hydrolases, including glyoxylases
48	97	2,02	SMD_3675	hypothetical protein
89	179	2,01	SMD_1917	hypothetical protein
127	255	2,01	SMD_0839	DedD protein
229	114	0,50	SMD_3891	Bacterioferritin-associated ferredoxin
479	238	0,50	rimP	ribosome maturation factor RimP
135	67	0,50	hsdM	type I restriction-modification system,DNA-methyltransferase subunit M
184	91	0,49	SMD_1483	LysR family transcriptional regulator YnfL
511	252	0,49	pdhA	branched-chain alpha-keto acid dehydrogenase, E1 component subunit alpha
286	141	0,49	fdx	4Fe-4S ferredoxin
4361	2147	0,49	rplM	50S ribosomal protein L13
124	61	0,49	ksgA	dimethyladenosine transferase
57	28	0,49	SMD_2765	ABC transporter permease
165	81	0,49	SMD_3833	hypothetical protein
665	326	0,49	nuoM	NADH-ubiquinone oxidoreductase subunit M
8619	4199	0,49	rpsS	30S ribosomal protein S19
115	56	0,49	SMD_0005	hypothetical protein
255	124	0,49	SMD_4137	hypothetical protein
6713	3252	0,48	rplP	50S ribosomal protein L16
915	442	0,48	frr	ribosome recycling factor
58	28	0,48	SMD_2852	hypothetical protein
1131	545	0,48	SMD_3027	TonB-dependent receptor
81	39	0,48	SMD_0406	nitroreductase

27	13	0,48	psiF	PsiF repeat-containing protein
			tRNA-	
356	171	0,48	Pseudo	Xaa tRNA
75	36	0,48	tRNA-Leu	Leu tRNA
6582	3157	0,48	rpsC	30S ribosomal protein S3
724	347	0,48	nuoJ	NADH-ubiquinone oxidoreductase subunit J
46	22	0,48	SMD_3994	Short chain fatty acids transporter
1246	593	0,48	SMD_1172	hypothetical protein
82	39	0,48	rlmH	50S m3Psi1915 methyltransferase RlmH
19	9	0,47	merR_1996	merR family transcriptional regulator
125	59	0,47	folB	dihydroneopterin aldolase
				phosphate-specific outer membrane porin OprP Pyrophosphate-specific outer
87	41	0,47	oprP	membrane porin OprO
119	56	0,47	SMD_4114	dipeptidyl-peptidase
51	24	0,47	SMD_1047	hypothetical protein
34	16	0,47	SMD_1104	hypothetical protein
17	8	0,47	SMD_2655	hypothetical protein
992	466	0,47	tRNA-Asp	Asp tRNA
352	165	0,47	SMD_2032	hypothetical protein
15	7	0,47	SMD_0055	trypsin
28	13	0,46	copD	Copper resistance protein D
52	24	0,46	SMD_2998	hypothetical protein
39	18	0,46	SMD_2317	hypothetical protein
141	65	0,46	exoD	exopolysaccharide synthesis
113	52	0,46	SMD_3092	hypothetical protein
274	126	0,46	lepB	Signal peptidase I
244	112	0,46	SMD_0230	branched-chain acyl-CoA dehydrogenase
24	11	0,46	SMD_3032	3-demethylubiquinone-9 3-methyltransferase
59	27	0,46	SMD_3160	hypothetical protein
92	42	0,46	mmsB	3-hydroxyisobutyrate dehydrogenase
112	51	0,46	SMD_1266	Cobalt-zinc-cadmium resistance protein CzcD
6842	3114	0,46	rplW	50S ribosomal protein L23
33	15	0,45	SMD_4177	methyl-accepting chemotaxis protein I (serine chemoreceptor protein)
11	5	0,45	SMD_0023	ATP-dependent DNA ligase
11	5	0,45	SMD_1617	hypothetical protein
11	5	0,45	SMD_1876	carboxylesterase
11	5	0,45	SMD_2329	hypothetical protein
296	134	0,45	SMD_1644	hypothetical protein
6466	2917	0,45	rplV	50S ribosomal protein L22
91	41	0,45	tRNA-Arg	Arg tRNA
931	418	0,45	SMD_0008	Ferric siderophore transport system, periplasmic binding protein TonB
98	44	0,45	SMD_2997	hypothetical protein
				ABC-type transport system involved in resistance to organic solvents, periplasmic
56	25	0,45	SMD_0554	component USSDB6C
1146	511	0,45	cyoA	cytochrome O ubiquinol oxidase subunit II
83	37	0,45	SMD_4098	4-hydroxybenzoyl-CoA thioesterase
119	53	0,45	tRNA-Phe	Phe tRNA
63	28	0,44	SMD_3136	hypothetical protein
18	8	0,44	SMD_1474	ISStmaD3 transposase A
9	4	0,44	SMD_2242	Pass1-like protein
9	4	0,44	dgk	diacylglycerol kinase
416	184	0,44	SMD_3932	hypothetical protein
261	115	0,44	SMD_3127	hypothetical protein
312	137	0,44	SMD_4105	acyl carrier protein (ACP1)
82	36	0,44	motB	flagellar motor rotation protein MotB
1124	492	0,44	nuoA	NADH ubiquinone oxidoreductase subunit A
48	21	0,44	cdsA2	phosphatidate cytidyltransferase
281	122	0,43	acrD	RND efflux system, inner membrane transporter CmeB
51	22	0,43	SMD_4120	hypothetical protein
72	31	0,43	phoB	phosphate regulon transcriptional regulatory protein PhoB
258	111	0,43	rnpA	ribonuclease P protein component

14	6	0,43	SMD_0146	hypothetical protein
14	6	0,43	SMD_2268	cytoplasmic protein
7	3	0,43	cusA	Cobalt-zinc-cadmium resistance protein CzcA Cation efflux system protein CusA
7	3	0,43	SMD_2707	hypothetical protein
7	3	0,43	SMD_3437	hypothetical protein
82	35	0,43	SMD_0164	ISStmaD2 Transposase B
284	121	0,43	SMD_1257	drug/metabolite transporter (DMT) superfamily permease
271	115	0,42	SMD_0455	hypothetical protein
78	33	0,42	SMD_1579	ISStmaD2 Transposase B
98	41	0,42	cydC	transport ATP-binding protein CydC
82	34	0,41	SMD_1586	hypothetical protein
719	297	0,41	fliC2	flagellar biosynthesis protein FliC
63	26	0,41	ssuE2	NADPH:quinone oxidoreductase
161	66	0,41	SMD_2811	hypothetical protein
911	373	0,41	nuoH	NADH-ubiquinone oxidoreductase subunit H
22	9	0,41	SMD_1129	transcriptional regulator
27	11	0,41	SMD_2313	macrolide-specific efflux protein MacA
398	162	0,41	SMD_1632	BLUF domain containing protein
32	13	0,41	tolA	TolA protein
79	32	0,41	motA	flagellar motor rotation protein MotA
633	256	0,40	fliC	flagellar biosynthesis protein FliC
47	19	0,40	SMD_0393	hypothetical protein
72	29	0,40	tRNA-Val	Val tRNA
179	72	0,40	sugE2	quaternary ammonium compound-resistance protein sugE
1134	454	0,40	cyoC	cytochrome O ubiquinol oxidase subunit III
315	126	0,40	SMD_2758	hypothetical protein
15	6	0,40	arcD	Arginine/ornithine antiporter ArcD
5	2	0,40	SMD_0425	hypothetical protein
5	2	0,40	SMD_0988	hypothetical protein
				TonB-dependent receptor Outer membrane receptor for ferrienterochelin and
5	2	0,40	bfrA	colicins
5	2	0,40	SMD_1340	hypothetical protein
5	2	0,40	SMD_3955	ISStmaD3 transposase A
5	2	0,40	SMD_3982	Thiol-disulfide isomerase and thioredoxins
168	67	0,40	SMD_1478	ISStmaD2 Transposase B
138	55	0,40	hsdS	type I restriction-modification system, specificity subunit S
91	36	0,40	tRNA-Arg	Arg tRNA
428	169	0,39	tRNA-fMet	Met tRNA
193	76	0,39	tRNA-Asp	Asp tRNA
117	46	0,39	SMD_4045	hypothetical protein
79	31	0,39	rimI	ribosomal-protein-S18p-alanine acetyltransferase
338	132	0,39	SMD_1252	hypothetical protein
54	21	0,39	emrA	tripartite multidrug resistance system membrane fusion protein
175	68	0,39	SMD_2812	Oligopeptide transporter
67	26	0,39	SMD_3140	hypothetical protein
651	252	0,39	yajC	preprotein translocase subunit YajC (TC 3.A.5.1.1)
771	297	0,39	dat	Aminotransferase, class III
211	81	0,38	SMD_3091	hypothetical protein
47	18	0,38	SMD_2098	hypothetical protein
81	31	0,38	SMD_1860	hypothetical protein
55	21	0,38	ffs	-
45	17	0,38	SMD_2190	sensor histidine kinase
16	6	0,38	sugE	quaternary ammonium compound-resistance protein sugE
16	6	0,38	SMD_1890	BLUF domain containing protein
8	3	0,38	C4.8	-
8	3	0,38	SMD_2219	hypothetical protein
8	3	0,38	SMD_2931	hypothetical protein
99	37	0,37	SMD_2031	chemotaxis protein
154	57	0,37	SMD_2923	hypothetical protein
19	7	0,37	pstB	phosphate transport ATP-binding protein PstB (TC 3.A.1.7.1)
175	64	0,37	adi	Lysine decarboxylase 2, constitutive

11	4	0,36	SMD_0279	hypothetical protein
11	4	0,36	SMD_1297	Mr3171 protein
11	4	0,36	SMD_3751	hypothetical protein
36	13	0,36	SMD_1641	general stress protein TonB-dependent receptor Outer membrane receptor for ferrienterochelin and
25	9	0,36	SMD_1265	colicins
738	264	0,36	nuoI	NADH-ubiquinone oxidoreductase subunit I
316	112	0,35	SMD_1692	cytochrome c family protein
51	18	0,35	SMD_3190	hypothetical protein
17	6	0,35	SMD_1997	3-oxoacyl-ACP reductase
17	6	0,35	mgtA	Mg(2) transport ATPase, P-type
1214	428	0,35	cyoB	cytochrome O ubiquinol oxidase subunit I
23	8	0,35	SMD_0421	hypothetical protein DNA binding 3-demethylubiquinone-9 3-methyltransferase domain-containing
23	8	0,35	SMD_3154	protein
47	16	0,34	SMD_2943	hypothetical protein
251	84	0,33	SMD_3858	hypothetical protein
87	29	0,33	SMD_2009	DNA-binding protein
21	7	0,33	SMD_3653	hypothetical protein
18	6	0,33	SMD_0246	hypothetical protein
18	6	0,33	SMD_2421	hypothetical protein
9	3	0,33	SMD_1870	hypothetical protein
9	3	0,33	SMD_2173	hypothetical protein
6	2	0,33	smmC	heavy metal RND efflux outer membrane protein,CzcC family
3	1	0,33	C4.10	-
3	1	0,33	SMD_1123	hypothetical protein
3	1	0,33	SMD_1599	hypothetical protein
3	1	0,33	SMD_1609	phage capsid and scaffold
3	1	0,33	C4.5	-
3	1	0,33	SMD_2181	CTP:molybdopterin cytidyllyltransferase
3	1	0,33	SMD_2213	type 12 methyltransferase phosphate-specific outer membrane porin OprP Pyrophosphate-specific outer
3	1	0,33	SMD_2248	membrane porin OprO
3	1	0,33	cysJ	sulfite reductase [NADPH] flavoprotein alpha-component
3	1	0,33	SMD_3504	hypothetical protein
3	1	0,33	SMD_3742	two-component response regulator
3	1	0,33	SMD_3967	TonB-dependent receptor
131	42	0,32	SMD_3161	methyl-accepting chemotaxis protein I (serine chemoreceptor protein)
375	117	0,31	SMD_1295	hypothetical protein
181	56	0,31	SMD_0231	enoyl-CoA hydratase
743	228	0,31	pilA	type IV pilin PilA
36	11	0,31	C4.2	-
321	97	0,30	ihfB	integration host factor subunit beta
71	21	0,30	tRNA-Ala	Ala tRNA
17	5	0,29	SMD_1995	NAD(P)H dehydrogenase, quinone family
722	212	0,29	tRNA-His	His tRNA
28	8	0,29	SMD_3590	methyl parathion hydrolase
21	6	0,29	tRNA-Asn	Asn tRNA
29	8	0,28	SMD_3187	hypothetical protein
531	145	0,27	tRNA-Leu	Leu tRNA Secreted protein containing N-terminal Zinc-dependent carboxypeptidase
11	3	0,27	SMD_0516	related domain
11	3	0,27	phoU	phosphate transport system regulatory protein PhoU
11	3	0,27	SMD_2124	hypothetical protein
455	121	0,27	rhIE	ATP-dependent RNA helicase RhIE
1861	491	0,26	cydA	cytochrome d ubiquinol oxidase subunit I
19	5	0,26	SMD_0413	hypothetical protein
121	31	0,26	prpB	methylisocitrate lyase
44	11	0,25	SMD_0163	hypothetical protein
4	1	0,25	C4.3	-
4	1	0,25	SMD_0442	major facilitator family transporter

4	1	0,25	SMD_0891	hypothetical protein
4	1	0,25	SMD_2218	hypothetical protein
4	1	0,25	SMD_2547	MgtC/SapB transporter
4	1	0,25	SMD_2778	hypothetical protein
4	1	0,25	GpU	phage-related tail protein
4	1	0,25	C4.13	-
				cytochrome oxidase biogenesis protein Sco1/SenC/PrrC copper
4	1	0,25	SMD_3975	metallochaperone
311	76	0,24	tRNA-Lys	Lys tRNA
33	8	0,24	dctA	C4-dicarboxylate transport protein
38	9	0,24	SMD_1156	Histone acetyltransferase HPA2 and related acetyltransferases
793	186	0,23	SMD_2857	hypothetical protein
133	31	0,23	SMD_0232	3-hydroxyisobutyryl-CoA hydrolase
176	41	0,23	SMD_0024	hypothetical protein
				Cobalt/zinc/cadmium efflux RND transporter, membrane fusion protein, CzcB
14	3	0,21	smmP2	family
411	85	0,21	SMD_0229	methymalonate-semialdehyde dehydrogenase
5	1	0,20	SMD_2260	hypothetical protein
5	1	0,20	SMD_3286	hypothetical protein
5	1	0,20	SMD_3752	hypothetical protein
261	48	0,18	SMD_2578	amino acid permease
44	8	0,18	SMD_1691	TonB-dependent receptor
11	2	0,18	SMD_0916	outer membrane protein CC_0351 precursor
28	5	0,18	SMD_1458	hypothetical protein
51	9	0,18	SMD_2911	hypothetical protein
12	2	0,17	SMD_3753	Secreted and surface protein containing fasciclin-like repeats
6	1	0,17	SMD_0932	hypothetical protein
862	132	0,15	cydB	cytochrome d ubiquinol oxidase subunit II
17	2	0,12	pstA	phosphate transport system permease protein PstA (TC 3.A.1.7.1)
11	1	0,09	SMD_3363	hypothetical protein
179	14	0,08	pgk	phosphoglycerate kinase
27	2	0,07	SMD_1587	hypothetical protein
14	1	0,07	SMD_2107	hypothetical protein
128	8	0,06	gph2	phosphoglycolate phosphatase
17	1	0,06	SMD_2330	hypothetical protein
35	1	0,03	pstC	phosphate transport system permease protein PstC (TC 3.A.1.7.1)
				phosphate ABC transporter, periplasmic phosphate-binding protein PstS (TC
78	2	0,03	pstS	3.A.1.7.1)
126	2	0,02	SMD_2116	AAA ATPase

^a Expresados como lecturas por kb por millón de lecturas mapeadas normalizado por el cuartil superior de la expresión génica.

^b Relación entre las casillas RPKM D457 y RPKM G3.F1.5 (se representan sólo los genes que este valor es mayor que 2 o menor que 0,5)

En rojo se señalan los genes sobreexpresados y en verde los genes expresados en menor nivel en FSV46 seleccionados para confirmar por RT-qPCR.

Tabla 17. Tiempos de vida media de ARNs en D457 y FSV46.

Nombre	Tiempo vida media D457	Tiempo vida media FSV46	Relación D457/FSV46	Nombre	Tiempo vida media D457	Tiempo vida media FSV46	Relación D457/FSV46	Nombre	Tiempo vida media D457	Tiempo vida media FSV46	Relación D457/FSV46
SMD_0678 -	1,97	3708,26	1886,56	SMD_3483 -	3,94	5,68	1,44	SMD_4210 recB	3,47	3,80	1,09
SMD_1553 -	3,10	1136,52	366,75	SMD_0372 -	5,64	8,12	1,44	SMD_3689 -	5,99	6,55	1,09
SMD_2365 copD2	3,32	1136,52	341,92	SMD_0166 -	6,19	8,91	1,44	SMD_4191 -	4,34	4,75	1,09
SMD_3187 -	6,09	1854,13	304,55	SMD_4077 -	12,68	18,25	1,44	SMD_1860 -	4,83	5,28	1,09
SMD_2456 dgk	2,64	578,77	219,17	SMD_3112 -	8,66	12,47	1,44	SMD_1063 -	3,55	3,88	1,09
SMD_2573 -	8,50	999,55	117,56	SMD_3020 -	7,10	10,23	1,44	SMD_3469 rpiA	3,21	3,51	1,09
SMD_2191 -	2,50	284,09	113,65	SMD_3500 -	4,17	6,00	1,44	SMD_3480 -	5,12	5,60	1,09
SMD_3759 -	8,11	479,32	59,09	SMD_0857 -	5,94	8,54	1,44	SMD_2481 -	3,74	4,09	1,09
SMD_1099 -	7,16	408,88	57,12	SMD_3544 -	5,76	8,28	1,44	SMD_2140 cusB2	2,73	2,98	1,09
SMD_2173 -	6,15	312,45	50,84	SMD_2318 -	5,23	7,52	1,44	SMD_0740 ilvE	4,17	4,55	1,09
SMD_2558 -	9,06	401,26	44,29	SMD_2405 -	6,87	9,88	1,44	SMD_3835 accC	2,90	3,17	1,09
SMD_2201 -	6,99	197,66	28,26	SMD_1111 -	2,76	3,96	1,44	SMD_0580 xpsE	4,61	5,03	1,09
SMD_1829 smmG	6,10	153,07	25,09	SMD_1391 -	4,33	6,21	1,44	SMD_3518 ilvN	2,19	2,39	1,09
SMD_0846 -	4,36	103,35	23,73	SMD_3306 -	3,96	5,68	1,44	SMD_2904 -	5,75	6,27	1,09
SMD_1424 -	5,63	129,20	22,93	SMD_3937 -	9,06	13,01	1,44	SMD_3364 C4.14	6,41	6,99	1,09
SMD_2523 -	3,49	77,40	22,16	SMD_4146 parB	3,98	5,71	1,44	SMD_3795 -	8,83	9,63	1,09
SMD_2667 -	4,70	103,35	22,01	SMD_3228 -	3,36	4,83	1,44	SMD_0870 clpP	3,87	4,22	1,09
SMD_3583 -	6,95	128,52	18,49	SMD_1946 hisG	2,59	3,71	1,44	SMD_1854 -	3,48	3,80	1,09
SMD_0196 -	8,83	159,05	18,01	SMD_3058 -	5,12	7,34	1,43	SMD_2962 infB	3,24	3,53	1,09
SMD_1569 -	11,07	171,59	15,50	SMD_3683 -	4,84	6,93	1,43	SMD_0820 rluA	4,86	5,30	1,09
SMD_3831 -	8,69	132,69	15,28	SMD_2570 -	5,28	7,57	1,43	SMD_0304 -	5,70	6,21	1,09
SMD_3849 -	2,35	34,75	14,78	SMD_0225 -	7,14	10,23	1,43	SMD_1926 -	3,64	3,97	1,09
SMD_3846 -	4,87	71,79	14,73	SMD_3065 -	3,35	4,80	1,43	SMD_0429 -	6,60	7,18	1,09
SMD_2926 -	10,60	150,55	14,20	SMD_3043 -	5,09	7,29	1,43	SMD_1030 -	4,01	4,37	1,09
SMD_0959 -	5,98	84,19	14,08	SMD_4211 recC	4,18	5,99	1,43	SMD_0004 gyrB	3,93	4,28	1,09
SMD_2034 -	5,07	69,16	13,65	SMD_0409 -	6,78	9,72	1,43	SMD_1130 -	4,23	4,60	1,09
SMD_3828 -	3,74	50,23	13,45	SMD_2032 -	3,29	4,71	1,43	SMD_4142 -	4,58	4,99	1,09
SMD_0900 -	3,72	47,93	12,90	SMD_3329 -	4,79	6,86	1,43	SMD_2163 -	3,49	3,80	1,09
SMD_2916 tRNA-Phe	3,39	41,42	12,22	SMD_0715 msrA2	3,93	5,62	1,43	SMD_4103 -	4,19	4,56	1,09
SMD_0393 -	2,47	28,90	11,70	SMD_0468 -	6,02	8,61	1,43	SMD_2680 aroA	3,92	4,27	1,09
SMD_1135 -	2,96	33,30	11,27	SMD_2222 -	3,02	4,32	1,43	SMD_0083 -	3,59	3,90	1,09
SMD_1537 -	3,79	41,91	11,07	SMD_1287 -	3,79	5,42	1,43	SMD_0667 -	5,05	5,49	1,09
SMD_0895 -	4,15	45,68	11,01	SMD_2837 -	5,06	7,23	1,43	SMD_0639 murE	3,51	3,82	1,09
SMD_1246 -	5,87	64,48	10,98	SMD_1228 trmD	3,45	4,92	1,43	SMD_3441 recG	3,79	4,12	1,09
SMD_0200 aceA	7,31	78,63	10,76	SMD_4165 -	3,96	5,66	1,43	SMD_1369 rlmB	4,15	4,52	1,09
SMD_0359 ctaD	7,77	81,88	10,53	SMD_2235 aguA	6,31	8,99	1,43	SMD_1892 -	8,11	8,82	1,09
SMD_0186 -	2,90	29,54	10,19	SMD_2908 rnd	4,40	6,27	1,43	SMD_1182 -	7,20	7,83	1,09
SMD_2587 tRNA-Glu	8,10	82,40	10,17	SMD_3007 -	4,76	6,79	1,42	SMD_3778 -	8,94	9,72	1,09
SMD_2785 -	3,04	30,82	10,13	SMD_2580 dsbG	2,97	4,23	1,42	SMD_3401 pykA	4,76	5,17	1,09
SMD_2514 -	3,05	30,89	10,13	SMD_3561 amn	4,88	6,95	1,42	SMD_2262 -	5,62	6,11	1,09
SMD_0278 yjbJ	6,29	61,55	9,78	SMD_0218 -	3,21	4,57	1,42	SMD_0746 -	4,27	4,64	1,09
SMD_0827 -	4,01	38,62	9,62	SMD_2131 smmD	4,68	6,67	1,42	SMD_0179 -	5,21	5,66	1,09
SMD_2345 -	4,28	39,11	9,13	SMD_2596 -	7,66	10,90	1,42	SMD_0972 -	5,57	6,04	1,09
SMD_0868 tRNA-Leu	3,73	32,96	8,83	SMD_1018 -	4,84	6,88	1,42	SMD_1390 -	3,67	3,98	1,09
SMD_0187 -	7,31	64,53	8,83	SMD_0289 -	4,78	6,79	1,42	SMD_3716 -	7,24	7,86	1,08
SMD_2329 -	2,64	22,97	8,70	SMD_0119 -	4,41	6,28	1,42	SMD_1299 rluF	6,02	6,53	1,08
SMD_4061 cbpD	6,86	58,94	8,59	SMD_2498 -	5,28	7,51	1,42	SMD_2634 -	4,41	4,78	1,08
SMD_2771 -	2,55	20,71	8,14	SMD_0501 -	4,35	6,18	1,42	SMD_2677 serS	4,64	5,03	1,08
SMD_1134 -	5,54	44,97	8,12	SMD_3614 -	3,72	5,28	1,42	SMD_0626 dld2	3,88	4,20	1,08
SMD_2586 tRNA-Ala	5,33	41,93	7,87	SMD_3148 -	4,12	5,85	1,42	SMD_3850 rpoH	7,10	7,70	1,08
SMD_0920 virD4	3,84	29,69	7,74	SMD_1604 -	6,07	8,63	1,42	SMD_1929 -	3,53	3,82	1,08
SMD_3807 -	2,60	20,10	7,73	SMD_0991 -	4,23	6,01	1,42	SMD_2999 trpF	3,93	4,25	1,08
SMD_0361 -	2,49	19,16	7,70	SMD_1588 tRNA-Gly	2,31	3,28	1,42	SMD_0484 -	4,51	4,89	1,08
SMD_2332 mgtC	3,04	22,82	7,51	SMD_1120 -	4,12	5,85	1,42	SMD_0317 -	4,29	4,64	1,08
SMD_0954 -	2,97	22,15	7,46	SMD_1501 -	3,15	4,46	1,42	SMD_3695 -	3,56	3,85	1,08
SMD_3742 -	3,13	23,03	7,37	SMD_0848 -	4,66	6,61	1,42	SMD_3721 estB	5,81	6,29	1,08
SMD_2389 -	9,52	69,70	7,32	SMD_2489 -	5,40	7,66	1,42	SMD_2397 exbD2	2,61	2,83	1,08
SMD_0988 -	2,54	18,10	7,12	SMD_2945 -	3,89	5,52	1,42	SMD_2004 recJ	4,67	5,06	1,08
SMD_3843 -	2,62	18,61	7,12	SMD_4156 -	6,20	8,79	1,42	SMD_0658 -	4,51	4,89	1,08
SMD_2267 -	4,54	31,97	7,05	SMD_0169 -	4,00	5,67	1,42	SMD_2609 -	3,81	4,13	1,08
SMD_2386 -	5,46	37,03	6,78	SMD_4222 -	4,17	5,92	1,42	SMD_1163 -	3,63	3,93	1,08
SMD_3757 -	10,27	69,54	6,77	SMD_3669 -	4,99	7,06	1,42	SMD_2554 cgb	3,75	4,06	1,08
SMD_3282 S	3,02	19,85	6,57	SMD_0772 -	4,01	5,68	1,42	SMD_1514 radC2	4,43	4,80	1,08
SMD_1820 gst2	3,90	25,60	6,56	SMD_0442 -	3,70	5,24	1,42	SMD_0978 fabD	4,66	5,05	1,08
SMD_2378 -	3,78	24,80	6,56	SMD_0222 purU	4,89	6,91	1,41	SMD_1845 galU	3,29	3,56	1,08
SMD_3815 -	14,52	94,04	6,47	SMD_3146 -	3,93	5,56	1,41	SMD_1050 -	5,91	6,39	1,08
SMD_3206 -	3,37	21,74	6,44	SMD_1174 -	3,53	4,99	1,41	SMD_2059 fliK	3,08	3,33	1,08
SMD_2522 -	6,06	38,85	6,41	SMD_0152 -	4,21	5,95	1,41	SMD_2793 -	3,99	4,32	1,08
SMD_1932 -	6,10	38,85	6,36	SMD_4048 -	4,77	6,74	1,41	SMD_4157 -	5,07	5,48	1,08
SMD_2911 -	6,75	42,62	6,31	SMD_1462 -	4,17	5,90	1,41	SMD_3612 nagA	3,22	3,48	1,08
SMD_1546 -	3,29	20,75	6,30	SMD_4033 -	3,85	5,44	1,41	SMD_2416 fecR	3,67	3,97	1,08
SMD_2452 -	2,69	16,82	6,24	SMD_3838 prmA	4,90	6,91	1,41	SMD_2655 -	3,35	3,62	1,08
SMD_3974 -	2,63	16,35	6,22	SMD_0705 -	5,27	7,44	1,41	SMD_0586 pefK	4,10	4,43	1,08
SMD_2212 -	3,43	21,31	6,21	SMD_0339 tRNA-Ile	4,28	6,04	1,41	SMD_2613 pps	4,47	4,83	1,08
SMD_1883 -	3,73	22,97	6,16	SMD_2360 -	5,08	7,16	1,41	SMD_2617 orn	5,11	5,52	1,08
SMD_1181 ate1	4,31	26,24	6,09	SMD_1422 -	2,85	4,02	1,41	SMD_4189 benE	6,54	7,06	1,08
SMD_0021 -	6,42	38,85	6,05	SMD_3317 ruvA	3,05	4,31	1,41	SMD_1395 rlmL	4,58	4,95	1,08
SMD_2502 -	3,90	23,55	6,03	SMD_0591 -	5,32	7,50	1,41	SMD_0500 -	4,63	4,99	1,08
SMD_2336 -	2,44	14,73	6,03	SMD_2210 -	2,97	4,18	1,41	SMD_1811 secD	3,76	4,06	1,08
SMD_2649 -	2,33	13,63	5,86	SMD_2735 -	3,25	4,58	1,41	SMD_3399 -	3,72	4,01	1,08
SMD_2670 -	3,22	18,60	5,78	SMD_1956 -	3,47	4,89	1,41	SMD_2528 -	3,60	3,89	1,08
SMD_2322 C4.15	7,82	44,89	5,74	SMD_0941 -	4,65	6,55	1,41	SMD_0355 nadR	3,52	3,80	1,08
SMD_3615 -	5,28	30,05	5,69	SMD_2020 betI	3,80	5,35	1,41	SMD_3004 -	4,08	4,40	1,08
SMD_3734 -	4,84	27,31	5,64	SMD_2897 -	4,22	5,94	1,41	SMD_3447 fdnH	4,81	5,19	1,08
SMD_3448 fdnI	3,32	18,35	5,52	SMD_2797 arsC2	3,46	4,87	1,41	SMD_0114 sodC	4,23	4,57	1,08
SMD_3985 -	4,29	23,15	5,40	SMD_3641 rodA	4,21	5,92	1,41	SMD_1026 mgtE	5,42	5,85	1,08
SMD_2469 -	3,69	19,65	5,33	SMD_0189 -	4,92	6,93	1,41	SMD_0576 purI	3,85	4,15	1,08
SMD_2215 -	3,90	20,75	5,32	SMD_0207 ivd	3,42	4,81	1,41	SMD_3474 hemL	4,41	4,75	1,08

SMD_0172 -	28,02	148,74	5,31	SMD_0518 -	17,25	24,26	1,41	SMD_4056 -	3,62	3,90	1,08
SMD_3753 -	6,27	33,13	5,28	SMD_1010 -	3,65	5,13	1,41	SMD_1002 -	9,58	10,31	1,08
SMD_2388 -	2,33	12,27	5,27	SMD_0329 -	3,20	4,49	1,41	SMD_3618 nahB	5,30	5,70	1,08
SMD_2361 -	3,57	18,40	5,16	SMD_0924 trbD	3,82	5,37	1,41	SMD_0505 msrA	7,43	8,00	1,08
SMD_1921 -	2,97	15,28	5,15	SMD_2738 qbsG	3,83	5,38	1,41	SMD_2635 -	3,32	3,57	1,08
SMD_2313 -	2,46	12,57	5,11	SMD_3214 -	2,92	4,10	1,41	SMD_0853 -	5,13	5,52	1,08
SMD_1825 -	3,09	15,57	5,04	SMD_3812 -	5,41	7,60	1,41	SMD_3311 tolA	3,76	4,04	1,08
SMD_2566 -	7,52	37,85	5,03	SMD_0199 mls	6,58	9,25	1,41	SMD_0332 ampG	4,98	5,35	1,07
SMD_4154 -	3,88	19,43	5,01	SMD_4107 -	5,38	7,55	1,40	SMD_2018 betA	4,32	4,64	1,07
SMD_1137 -	5,59	27,74	4,96	SMD_2225 -	3,13	4,40	1,40	SMD_1348 -	3,53	3,79	1,07
SMD_2197 -	2,01	9,95	4,94	SMD_1353 -	4,51	6,32	1,40	SMD_3176 prpD	5,09	5,47	1,07
SMD_3967 -	8,52	42,04	4,94	SMD_1201 -	3,26	4,57	1,40	SMD_1863 hsdM	3,34	3,58	1,07
SMD_3866 -	3,29	16,24	4,93	SMD_3011 -	4,54	6,36	1,40	SMD_2744 -	4,20	4,51	1,07
SMD_2401 gspC	2,88	14,02	4,87	SMD_3242 gshB	5,89	8,25	1,40	SMD_0356 putA	3,46	3,72	1,07
SMD_1136 -	3,69	17,84	4,84	SMD_3660 -	4,30	6,03	1,40	SMD_0549 spgM	3,73	4,01	1,07
SMD_2953 -	5,17	24,86	4,81	SMD_0478 motA	5,10	7,14	1,40	SMD_0153 -	8,94	9,60	1,07
SMD_2092 flgN	3,30	15,69	4,76	SMD_0123 -	5,04	7,05	1,40	SMD_1545 -	3,63	3,89	1,07
SMD_0363 -	2,19	10,41	4,75	SMD_1257 -	3,73	5,22	1,40	SMD_0718 oxyR	5,49	5,89	1,07
SMD_0762 -	9,56	45,07	4,71	SMD_3398 -	4,11	5,75	1,40	SMD_0323 algC	3,91	4,20	1,07
SMD_2279 -	3,75	17,61	4,69	SMD_3746 gst5	4,53	6,33	1,40	SMD_1370 -	4,12	4,42	1,07
SMD_2444 -	7,20	33,62	4,67	SMD_1339 -	6,07	8,49	1,40	SMD_2733 -	5,02	5,39	1,07
SMD_2506 -	4,67	21,82	4,67	SMD_1984 -	2,43	3,40	1,40	SMD_2731 asnC	4,36	4,68	1,07
SMD_3271 P	6,12	28,51	4,66	SMD_3782 -	4,29	6,00	1,40	SMD_2340 -	3,11	3,34	1,07
SMD_3687 -	2,38	11,08	4,65	SMD_0105 amtB	5,89	8,23	1,40	SMD_1199 ispH	3,31	3,55	1,07
SMD_1628 -	3,56	16,25	4,57	SMD_0402 -	6,13	8,56	1,40	SMD_0804 rplO	3,09	3,31	1,07
SMD_1157 -	5,24	23,89	4,56	SMD_1216 cyoD	2,58	3,61	1,40	SMD_0687 dgkA	4,40	4,72	1,07
SMD_0864 tRNA-His	7,99	36,38	4,55	SMD_1658 ispF	2,66	3,72	1,40	SMD_1941 thrC	4,50	4,83	1,07
SMD_2251 -	2,36	10,68	4,53	SMD_3796 ndh	8,80	12,29	1,40	SMD_1819 cspA	2,62	2,81	1,07
SMD_1945 -	2,53	11,40	4,50	SMD_2476 -	3,74	5,22	1,40	SMD_2830 -	3,31	3,55	1,07
SMD_2167 -	2,90	12,93	4,45	SMD_2990 trpA	3,23	4,50	1,40	SMD_1098 -	10,28	11,03	1,07
SMD_1684 -	2,64	11,76	4,45	SMD_3378 thiG	3,95	5,52	1,40	SMD_4147 parA	4,87	5,22	1,07
SMD_2185 yagT	2,51	11,13	4,44	SMD_3478 -	4,16	5,81	1,40	SMD_3457 -	4,39	4,71	1,07
SMD_2159 -	4,54	20,11	4,43	SMD_1377 -	4,59	6,40	1,39	SMD_3792 -	6,46	6,92	1,07
SMD_1771 -	3,35	14,78	4,41	SMD_3760 -	4,39	6,12	1,39	SMD_3349 -	4,11	4,41	1,07
SMD_2184 yagS	5,20	22,85	4,39	SMD_1653 -	3,08	4,30	1,39	SMD_2704 -	4,55	4,88	1,07
SMD_3891 -	2,04	8,94	4,38	SMD_4010 -	6,55	9,13	1,39	SMD_0814 -	6,07	6,50	1,07
SMD_1316 -	8,54	37,34	4,37	SMD_3389 -	3,91	5,45	1,39	SMD_1957 -	3,63	3,89	1,07
SMD_2310 -	4,21	18,35	4,35	SMD_2341 -	4,32	6,01	1,39	SMD_0493 fabA	3,29	3,53	1,07
SMD_3204 -	3,31	14,29	4,32	SMD_0708 -	3,70	5,16	1,39	SMD_2135 -	3,62	3,88	1,07
SMD_1254 mtnX	3,46	14,86	4,30	SMD_2228 rpfN	2,88	4,01	1,39	SMD_2599 tex	4,10	4,39	1,07
SMD_3515 -	3,95	16,98	4,29	SMD_2003 -	3,81	5,30	1,39	SMD_0775 rplA	3,49	3,74	1,07
SMD_2551 -	3,48	14,96	4,29	SMD_3998 -	5,14	7,15	1,39	SMD_2074 flid	3,36	3,60	1,07
SMD_1317 -	4,67	20,01	4,28	SMD_3485 -	3,77	5,25	1,39	SMD_1742 mutY	4,50	4,82	1,07
SMD_1783 -	2,43	10,35	4,26	SMD_1425 -	3,80	5,28	1,39	SMD_1338 rpsB	4,21	4,51	1,07
SMD_2858 tRNA-Pro	2,77	11,74	4,23	SMD_3427 pilN	6,28	8,74	1,39	SMD_3894 tRNA-Gln	7,82	8,36	1,07
SMD_1804 -	3,27	13,79	4,22	SMD_1642 exoD	4,18	5,81	1,39	SMD_1041 murA	4,38	4,69	1,07
SMD_4152 calB	5,06	21,30	4,21	SMD_0298 -	4,67	6,49	1,39	SMD_2406 pstS2	3,96	4,24	1,07
SMD_2292 -	10,75	45,20	4,20	SMD_0472 -	5,15	7,17	1,39	SMD_3818 -	4,11	4,39	1,07
SMD_1772 -	2,79	11,64	4,17	SMD_1754 -	4,59	6,38	1,39	SMD_3826 -	10,50	11,23	1,07
SMD_3503 -	6,02	24,95	4,15	SMD_3543 oprP	4,74	6,59	1,39	SMD_1813 -	3,77	4,03	1,07
SMD_2190 -	2,52	10,44	4,14	SMD_2640 -	4,47	6,21	1,39	SMD_1888 -	3,81	4,07	1,07
SMD_1909 -	3,34	13,79	4,13	SMD_2095 -	4,52	6,28	1,39	SMD_1849 ndk	3,76	4,02	1,07
SMD_3865 -	3,68	15,06	4,09	SMD_2933 -	8,07	11,20	1,39	SMD_2719 -	4,67	4,99	1,07
SMD_1649 -	9,23	37,59	4,07	SMD_1665 -	3,65	5,07	1,39	SMD_4053 -	6,24	6,66	1,07
SMD_0411 -	5,65	22,90	4,05	SMD_0360 -	2,33	3,23	1,39	SMD_0508 -	3,83	4,09	1,07
SMD_1512 -	4,23	17,12	4,05	SMD_2644 -	6,66	9,24	1,39	SMD_1321 accA	3,31	3,54	1,07
SMD_0452 -	3,08	12,44	4,03	SMD_2623 -	2,92	4,05	1,39	SMD_3031 -	3,56	3,80	1,07
SMD_2287 -	9,94	39,87	4,01	SMD_3093 -	7,39	10,24	1,39	SMD_0726 -	4,82	5,15	1,07
SMD_3731 -	6,05	24,16	4,00	SMD_0177 -	3,86	5,35	1,39	SMD_2137 -	2,78	2,97	1,07
SMD_3053 -	3,77	14,85	3,94	SMD_4125 -	3,53	4,89	1,38	SMD_3305 -	5,94	6,33	1,07
SMD_2852 -	1,87	7,37	3,94	SMD_3459 -	5,11	7,07	1,38	SMD_2495 -	4,43	4,72	1,07
SMD_1017 -	2,76	10,81	3,92	SMD_3476 -	4,14	5,73	1,38	SMD_1466 msbA	3,88	4,13	1,07
SMD_3268 -	12,44	48,47	3,90	SMD_0574 dsbC	5,18	7,17	1,38	SMD_3408 -	5,13	5,47	1,07
SMD_0364 -	7,45	28,92	3,88	SMD_0749 prfA	3,73	5,17	1,38	SMD_0742 -	5,19	5,53	1,07
SMD_3156 -	2,56	9,91	3,86	SMD_2642 -	3,19	4,42	1,38	SMD_1695 -	9,10	9,69	1,07
SMD_1938 -	5,39	20,81	3,86	SMD_2546 lctP	5,94	8,22	1,38	SMD_1168 minC	4,60	4,90	1,07
SMD_2411 gspL	4,54	17,36	3,83	SMD_1000 -	3,84	5,31	1,38	SMD_3594 dsbA2	3,60	3,84	1,07
SMD_1701 tRNA-Arg	4,57	17,49	3,83	SMD_0537 -	6,07	8,39	1,38	SMD_0104 glnB	11,34	12,08	1,07
SMD_2306 xthA2	5,43	20,74	3,82	SMD_4029 -	4,27	5,89	1,38	SMD_0214 -	4,05	4,31	1,06
SMD_1121 -	10,86	41,43	3,81	SMD_3258 copB2	5,29	7,30	1,38	SMD_2461 -	3,37	3,59	1,06
SMD_0135 -	4,76	18,14	3,81	SMD_0417 -	3,77	5,21	1,38	SMD_1189 -	3,45	3,67	1,06
SMD_2532 -	3,46	13,08	3,78	SMD_2150 -	3,77	5,20	1,38	SMD_0935 -	5,26	5,60	1,06
SMD_2701 -	3,99	15,06	3,78	SMD_1430 petA	8,64	11,91	1,38	SMD_2082 flgH	2,89	3,08	1,06
SMD_1933 -	6,72	25,36	3,77	SMD_3882 -	5,72	7,89	1,38	SMD_0270 -	6,32	6,73	1,06
SMD_1769 -	3,57	13,38	3,75	SMD_2106 clpA	4,04	5,57	1,38	SMD_2846 ccmE	4,07	4,34	1,06
SMD_2662 -	1,87	6,99	3,74	SMD_1732 sdhC	4,84	6,67	1,38	SMD_1673 hfq	3,83	4,08	1,06
SMD_2160 -	2,84	10,61	3,74	SMD_0046 rep	3,97	5,47	1,38	SMD_0842 -	3,85	4,10	1,06
SMD_0929 trbF	10,60	39,22	3,70	SMD_3177 -	3,56	4,90	1,38	SMD_0002 dnaN	3,62	3,85	1,06
SMD_2940 -	6,96	25,47	3,66	SMD_0130 C4.12	5,94	8,18	1,38	SMD_3264 -	7,00	7,44	1,06
SMD_3750 -	14,78	53,84	3,64	SMD_2165 -	3,79	5,22	1,38	SMD_4020 gidA	5,79	6,15	1,06
SMD_0488 -	4,56	16,62	3,64	SMD_0732 pntAa	6,57	9,05	1,38	SMD_4175 hemH	6,80	7,23	1,06
SMD_0421 -	7,19	26,16	3,64	SMD_3510 cadC	5,02	6,91	1,38	SMD_2484 -	4,66	4,95	1,06
SMD_1133 -	4,73	17,19	3,63	SMD_4171 tatC	5,20	7,16	1,38	SMD_1034 rpoN	4,00	4,26	1,06
SMD_0469 -	2,51	9,12	3,63	SMD_1159 -	5,22	7,19	1,38	SMD_2183 yagR	4,83	5,13	1,06
SMD_3157 katE	5,62	20,29	3,61	SMD_1436 -	5,34	7,35	1,38	SMD_0601 nfrB	4,82	5,12	1,06
SMD_3096 -	8,79	31,54	3,59	SMD_0910 cusA5	7,49	10,30	1,38	SMD_2974 nuoG	3,02	3,21	1,06
SMD_2501 -	2,71	9,63	3,56	SMD_3655 -	3,66	5,04	1,38	SMD_3071 -	4,30	4,57	1,06
SMD_1516 -	9,55	33,61	3,52	SMD_0227 -	11,64	16,01	1,38	SMD_0010 exbD	3,28	3,48	1,06
SMD_1486 copC	9,15	32,21	3,52	SMD_1687 -	3,90	5,37	1,37	SMD_2835 scpB	4,86	5,16	1,06
SMD_1905 -	4,60	16,19	3,52	SMD_2647 -	6,22	8,56	1,37	SMD_0318 argS	5,02	5,33	1,06
SMD_3294 GpU	3,91	13,71	3,51	SMD_2951 infC	2,77	3,81	1,37	SMD_0881 -	5,84	6,20	1,06
SMD_2565 -	4,52	15,78	3,49	SMD_0627 -	4,42	6,07	1,37	SMD_3209 gtrB	5,17	5,48	1,06
SMD_0560 -	9,39	32,26	3,44	SMD_3713 glpK	4,91	6,75	1,37	SMD_1269 -	3,27	3,47	1,06
SMD_1937 -	4,54	15,57	3,43	SMD_1125 -	13,96	19,18	1,37	SMD_1011 proC	4,04	4,28	1,06
SMD_1880 -	6,24	21,39	3,43	SMD_1198 lspA	2,71	3,73	1,37	SMD_2013 lysS	4,04	4,28	1,06

SMD_3659 smeT	3,09	10,56	3,42	SMD_0541 -	3,07	4,21	1,37	SMD_1024 -	4,88	5,18	1,06
SMD_2799 -	4,85	16,46	3,40	SMD_0144 nreB	4,81	6,61	1,37	SMD_1823 dbpA	4,60	4,88	1,06
SMD_2123 -	2,01	6,81	3,39	SMD_3869 -	5,06	6,95	1,37	SMD_2598 -	4,64	4,92	1,06
SMD_4185 tRNA-Ile	6,91	23,38	3,38	SMD_1363 -	5,10	7,00	1,37	SMD_0819 mdh	3,63	3,85	1,06
SMD_0620 -	3,67	12,35	3,37	SMD_4235 trmE	4,63	6,35	1,37	SMD_2398 exbB2	4,71	4,99	1,06
SMD_3100 -	4,97	16,71	3,36	SMD_3429 mrcA	4,71	6,46	1,37	SMD_2122 -	2,62	2,77	1,06
SMD_0134 arsh	4,67	15,54	3,33	SMD_3373 -	4,10	5,62	1,37	SMD_1151 -	2,52	2,67	1,06
SMD_3942 -	1,94	6,41	3,31	SMD_0434 -	2,97	4,07	1,37	SMD_1045 purN	5,31	5,63	1,06
SMD_2603 -	2,31	7,64	3,31	SMD_2227 fruA	3,06	4,19	1,37	SMD_0115 sodC2	3,99	4,23	1,06
SMD_2097 -	4,53	14,96	3,30	SMD_1322 -	2,56	3,51	1,37	SMD_3664 -	3,86	4,08	1,06
SMD_0890 -	16,65	54,99	3,30	SMD_4190 -	3,72	5,09	1,37	SMD_3562 -	4,83	5,11	1,06
SMD_2786 gst3	4,89	16,07	3,29	SMD_2773 -	3,41	4,67	1,37	SMD_0400 -	5,71	6,04	1,06
SMD_0165 -	2,77	9,09	3,28	SMD_3425 pilP	3,79	5,19	1,37	SMD_2293 -	6,81	7,20	1,06
SMD_3598 -	3,95	12,90	3,27	SMD_2899 -	3,39	4,64	1,37	SMD_2632 virB4	2,79	2,95	1,06
SMD_3241 pilG	6,03	19,65	3,26	SMD_1832 -	3,39	4,64	1,37	SMD_0538 -	8,81	9,32	1,06
SMD_2395 -	4,78	15,57	3,26	SMD_0993 -	2,95	4,03	1,37	SMD_2025 acnB	3,41	3,61	1,06
SMD_2202 -	4,66	15,16	3,25	SMD_0211 -	4,29	5,87	1,37	SMD_1808 queA	4,75	5,02	1,06
SMD_0110 -	8,73	28,37	3,25	SMD_3039 -	4,08	5,58	1,37	SMD_1598 -	3,51	3,71	1,06
SMD_1535 -	7,06	22,92	3,25	SMD_2443 -	4,80	6,57	1,37	SMD_1327 fabZ	3,71	3,92	1,06
SMD_2937 rhtB	4,41	14,29	3,24	SMD_0733 -	6,17	8,44	1,37	SMD_0681 -	2,91	3,07	1,06
SMD_0737 pntB	5,14	16,46	3,20	SMD_0164 -	2,55	3,49	1,37	SMD_2788 -	5,32	5,62	1,06
SMD_3132 rpoE	5,55	17,77	3,20	SMD_4139 smmP	5,05	6,91	1,37	SMD_2873 argG	3,38	3,57	1,06
SMD_2560 -	8,86	28,34	3,20	SMD_1175 -	3,16	4,33	1,37	SMD_0122 -	8,11	8,56	1,06
SMD_1129 -	5,23	16,73	3,20	SMD_3135 aqpZ	4,86	6,64	1,37	SMD_0277 ecnA	4,17	4,41	1,06
SMD_0389 -	7,17	22,92	3,20	SMD_1320 -	3,75	5,12	1,37	SMD_3006 yfCB	4,62	4,87	1,05
SMD_2615 -	2,52	8,05	3,19	SMD_2724 zipA	4,32	5,90	1,37	SMD_2129 -	5,40	5,70	1,05
SMD_1511 -	8,89	28,15	3,17	SMD_0843 -	4,64	6,33	1,37	SMD_3040 slyD	3,68	3,88	1,05
SMD_2939 -	5,08	16,09	3,17	SMD_3068 ybbN	4,74	6,48	1,37	SMD_0008 -	4,18	4,41	1,05
SMD_3075 -	4,60	14,55	3,16	SMD_3120 -	3,78	5,15	1,36	SMD_0250 -	7,65	8,07	1,05
SMD_2486 nrdF	2,36	7,46	3,16	SMD_3070 -	5,55	7,56	1,36	SMD_0338 tRNA-Ala	3,67	3,87	1,05
SMD_3706 -	8,62	27,17	3,15	SMD_1273 -	4,39	5,98	1,36	SMD_1812 secF	3,14	3,31	1,05
SMD_3840 fis	2,31	7,29	3,15	SMD_1437 nadC	3,46	4,71	1,36	SMD_0224 -	5,39	5,69	1,05
SMD_4055 -	5,78	18,19	3,14	SMD_0257 -	5,34	7,27	1,36	SMD_0818 ppiB	3,84	4,05	1,05
SMD_0027 -	4,68	14,70	3,14	SMD_4039 dinG	4,57	6,23	1,36	SMD_1165 -	3,50	3,69	1,05
SMD_2117 -	4,40	13,79	3,13	SMD_2130 -	2,99	4,08	1,36	SMD_2491 -	5,06	5,33	1,05
SMD_4186 tRNA-Ala	8,07	25,26	3,13	SMD_3635 lipB	4,90	6,67	1,36	SMD_1016 -	5,96	6,28	1,05
SMD_2453 -	2,19	6,84	3,13	SMD_2275 -	6,96	9,48	1,36	SMD_3642 mrdB	3,71	3,91	1,05
SMD_2206 -	3,10	9,69	3,12	SMD_0447 -	4,86	6,61	1,36	SMD_3701 atpH	3,81	4,02	1,05
SMD_2763 -	2,83	8,80	3,11	SMD_0721 hemK	5,41	7,37	1,36	SMD_2057 flmM	3,31	3,49	1,05
SMD_3804 -	2,64	8,19	3,10	SMD_3048 ispA	4,54	6,19	1,36	SMD_0467 -	4,06	4,27	1,05
SMD_0154 -	8,85	27,28	3,08	SMD_3563 -	5,30	7,22	1,36	SMD_3303 -	4,44	4,68	1,05
SMD_2369 -	3,36	10,34	3,08	SMD_3682 -	3,89	5,30	1,36	SMD_4199 -	3,35	3,53	1,05
SMD_0155 -	8,36	25,62	3,06	SMD_1124 -	7,63	10,38	1,36	SMD_2867 -	2,73	2,88	1,05
SMD_3799 -	5,54	16,97	3,06	SMD_2608 -	7,23	9,84	1,36	SMD_0480 -	6,71	7,07	1,05
SMD_3988 -	4,22	12,91	3,06	SMD_0095 -	2,84	3,86	1,36	SMD_2997 -	3,57	3,76	1,05
SMD_1567 topB	6,35	19,42	3,06	SMD_0042 mdoD	4,66	6,34	1,36	SMD_3151 Glycine.4	3,04	3,20	1,05
SMD_1231 -	6,84	20,81	3,04	SMD_1822 apt	2,98	4,05	1,36	SMD_3488 mpl	4,99	5,25	1,05
SMD_3987 -	5,21	15,85	3,04	SMD_3149 -	7,03	9,56	1,36	SMD_3273 N	8,81	9,27	1,05
SMD_2091 flgM	2,40	7,23	3,01	SMD_3403 pgk	3,50	4,76	1,36	SMD_4209 recD	4,32	4,54	1,05
SMD_3588 -	5,89	17,71	3,01	SMD_2751 bcd	3,23	4,39	1,36	SMD_3886 -	5,87	6,17	1,05
SMD_1020 yhgE	5,86	17,59	3,00	SMD_2880 -	3,95	5,36	1,36	SMD_1896 -	5,76	6,05	1,05
SMD_3218 -	1,99	5,97	3,00	SMD_3462 -	3,91	5,31	1,36	SMD_0779 rpoC	3,16	3,32	1,05
SMD_3751 -	2,22	6,57	2,96	SMD_3235 -	3,39	4,61	1,36	SMD_0230 -	3,90	4,10	1,05
SMD_4014 bioH	3,77	11,06	2,94	SMD_0872 lon	3,09	4,20	1,36	SMD_2958 pnp	3,34	3,51	1,05
SMD_3574 -	2,66	7,78	2,93	SMD_1795 dnaJ	2,88	3,91	1,36	SMD_3181 prpC	3,97	4,17	1,05
SMD_1289 -	10,13	29,59	2,92	SMD_2819 moaB3	4,18	5,67	1,36	SMD_3350 rluD	3,81	4,00	1,05
SMD_2709 -	1,99	5,81	2,92	SMD_3542 dctA	9,13	12,39	1,36	SMD_1438 -	4,50	4,73	1,05
SMD_2296 -	3,82	11,14	2,92	SMD_2214 -	4,48	6,08	1,36	SMD_2950 RL35	3,70	3,88	1,05
SMD_1975 -	4,77	13,88	2,91	SMD_3128 lepB	3,10	4,20	1,36	SMD_3170 pilH	4,01	4,22	1,05
SMD_3257 copA2	6,20	17,97	2,90	SMD_0581 xpsF	3,70	5,02	1,36	SMD_1864 hsdS	2,75	2,88	1,05
SMD_2241 -	2,46	7,14	2,90	SMD_0743 -	6,37	8,65	1,36	SMD_0826 fadH	7,58	7,96	1,05
SMD_2658 -	3,88	11,21	2,89	SMD_3123 -	5,01	6,80	1,36	SMD_1664 nlpD	3,36	3,53	1,05
SMD_3810 -	4,70	13,54	2,88	SMD_3226 -	3,64	4,93	1,36	SMD_3854 ftsE	5,12	5,37	1,05
SMD_2189 -	3,92	11,25	2,87	SMD_2982 secG	5,09	6,89	1,36	SMD_1451 pilY1	3,21	3,37	1,05
SMD_0291 -	4,29	12,27	2,86	SMD_4120 -	5,09	6,90	1,36	SMD_1085 -	3,93	4,13	1,05
SMD_1962 -	2,09	5,96	2,85	SMD_0590 xpsD	3,40	4,61	1,35	SMD_0327 kdpB	5,19	5,44	1,05
SMD_2458 -	5,20	14,81	2,85	SMD_0052 mviM	5,93	8,04	1,35	SMD_1194 rpsT	3,77	3,95	1,05
SMD_2981 tRNA-Leu	4,57	13,01	2,85	SMD_3908 -	4,93	6,67	1,35	SMD_1329 -	3,30	3,46	1,05
SMD_0894 -	3,48	9,86	2,83	SMD_4124 -	5,19	7,03	1,35	SMD_0126 gpsA	3,64	3,82	1,05
SMD_1890 -	3,45	9,77	2,83	SMD_0005 -	4,20	5,70	1,35	SMD_4096 -	3,70	3,88	1,05
SMD_1292 -	2,90	8,19	2,82	SMD_3409 -	4,05	5,49	1,35	SMD_3129 lepA	4,44	4,65	1,05
SMD_2384 -	4,11	11,60	2,82	SMD_2948 pheS	4,47	6,05	1,35	SMD_3202 metB	8,30	8,70	1,05
SMD_3610 -	4,40	12,41	2,82	SMD_3889 -	5,23	7,08	1,35	SMD_4034 -	4,36	4,57	1,05
SMD_1688 -	4,14	11,63	2,81	SMD_3581 -	4,24	5,74	1,35	SMD_1967 scrK	3,05	3,20	1,05
SMD_2417 -	4,54	12,74	2,81	SMD_2362 -	5,01	6,77	1,35	SMD_0492 fabB	3,51	3,67	1,05
SMD_3016 -	2,39	6,69	2,81	SMD_1478 -	4,95	6,70	1,35	SMD_3624 -	4,70	4,92	1,05
SMD_1637 fkbP	2,37	6,63	2,80	SMD_1311 -	5,03	6,81	1,35	SMD_0283 -	4,67	4,89	1,05
SMD_2351 -	3,48	9,76	2,80	SMD_1587 -	3,90	5,27	1,35	SMD_3354 sucD	2,90	3,03	1,05
SMD_0674 -	5,07	14,19	2,80	SMD_3548 tctD	4,54	6,15	1,35	SMD_0675 rbsK	3,91	4,10	1,05
SMD_3955 -	7,74	21,66	2,80	SMD_0373 -	4,57	6,18	1,35	SMD_2002 -	3,34	3,50	1,05
SMD_2876 -	6,93	19,38	2,80	SMD_2816 -	5,26	7,10	1,35	SMD_0778 rpoB	3,53	3,70	1,05
SMD_1873 -	4,48	12,52	2,79	SMD_1711 -	4,33	5,84	1,35	SMD_1297 -	7,71	8,07	1,05
SMD_1074 -	1,99	5,54	2,79	SMD_3245 yoaA	4,42	5,96	1,35	SMD_1285 -	3,69	3,86	1,05
SMD_3475 -	1,59	4,42	2,79	SMD_3367 -	4,28	5,78	1,35	SMD_2831 -	4,30	4,50	1,05
SMD_1770 -	2,48	6,91	2,78	SMD_3679 prfC	3,48	4,70	1,35	SMD_2015 rpfC	3,98	4,17	1,05
SMD_0889 -	3,05	8,49	2,78	SMD_2040 -	3,57	4,81	1,35	SMD_4018 -	6,32	6,61	1,05
SMD_1571 -	2,95	8,20	2,78	SMD_3783 topA	3,72	5,02	1,35	SMD_3251 relA	4,62	4,83	1,05
SMD_0273 -	8,27	22,99	2,78	SMD_3097 -	4,45	5,99	1,35	SMD_4019 -	6,00	6,28	1,05
SMD_1183 -	6,77	18,80	2,78	SMD_3220 -	5,29	7,12	1,35	SMD_2883 -	3,78	3,95	1,05
SMD_0209 -	4,52	12,52	2,77	SMD_2312 -	4,48	6,02	1,34	SMD_2978 nuocC	3,92	4,10	1,04
SMD_2697 -	2,58	7,12	2,76	SMD_1219 hsp90xo	4,27	5,73	1,34	SMD_2182 xdhC	4,93	5,15	1,04
SMD_0264 -	4,13	11,37	2,76	SMD_0628 -	4,77	6,41	1,34	SMD_0610 nrdR	5,76	6,02	1,04
SMD_2934 -	5,26	14,50	2,76	SMD_2380 proP	5,63	7,56	1,34	SMD_4137 -	2,18	2,27	1,04
SMD_4143 DPM1	5,48	15,07	2,75	SMD_3005 aroC	3,91	5,25	1,34	SMD_0625 -	6,22	6,49	1,04
SMD_2919 -	3,32	9,09	2,74	SMD_2791 -	4,74	6,36	1,34	SMD_0780 rpsL	3,21	3,35	1,04

SMD_0451 -	2,56	6,99	2,73	SMD_3468 -	5,07	6,80	1,34	SMD_0645 ddIB	2,99	3,12	1,04
SMD_1444 -	4,60	12,57	2,73	SMD_3471 sirB1	5,07	6,80	1,34	SMD_2133 cusA3	3,66	3,81	1,04
SMD_3748 -	2,08	5,68	2,73	SMD_3509 -	4,03	5,41	1,34	SMD_0968 -	5,38	5,61	1,04
SMD_1779 -	3,66	9,98	2,73	SMD_1418 corC	3,18	4,27	1,34	SMD_3421 -	5,20	5,42	1,04
SMD_1613 -	3,44	9,34	2,72	SMD_3557 -	5,31	7,12	1,34	SMD_3735 -	3,93	4,09	1,04
SMD_1156 -	3,79	10,24	2,70	SMD_2108 infA	3,02	4,06	1,34	SMD_1220 -	3,40	3,55	1,04
SMD_1239 -	6,99	18,83	2,70	SMD_0228 -	6,38	8,55	1,34	SMD_0803 rpmD	3,14	3,27	1,04
SMD_1591 -	3,64	9,77	2,68	SMD_1448 pilV	5,74	7,70	1,34	SMD_3726 -	7,47	7,78	1,04
SMD_2350 -	2,45	6,56	2,68	SMD_1674 hflX	3,22	4,32	1,34	SMD_0716 talB	3,76	3,92	1,04
SMD_1882 -	7,46	19,98	2,68	SMD_3779 smf	4,55	6,10	1,34	SMD_1415 -	3,96	4,13	1,04
SMD_0358 ctaC	6,43	17,19	2,68	SMD_1100 -	3,66	4,91	1,34	SMD_0809 rpoA	3,49	3,64	1,04
SMD_0295 -	4,45	11,89	2,67	SMD_3661 hslU	3,82	5,12	1,34	SMD_1761 -	4,00	4,16	1,04
SMD_1681 csrA	1,76	4,70	2,67	SMD_3455 rph	3,80	5,10	1,34	SMD_0958 -	6,03	6,28	1,04
SMD_0168 -	2,80	7,47	2,67	SMD_2075 fliC2	3,73	5,00	1,34	SMD_2805 gpo	5,40	5,62	1,04
SMD_3296 Gp17	3,53	9,41	2,67	SMD_1296 deaD	5,07	6,79	1,34	SMD_3489 adk	3,73	3,88	1,04
SMD_2172 -	7,38	19,65	2,66	SMD_1768 -	2,64	3,53	1,34	SMD_2218 -	3,82	3,98	1,04
SMD_1877 -	6,51	17,30	2,66	SMD_4097 -	3,27	4,38	1,34	SMD_2121 -	2,96	3,08	1,04
SMD_3467 -	6,33	16,81	2,65	SMD_1358 -	3,91	5,23	1,34	SMD_0544 rfbB	3,54	3,68	1,04
SMD_1550 -	5,80	15,39	2,65	SMD_1586 -	2,41	3,22	1,34	SMD_1229 rplS	4,38	4,55	1,04
SMD_3513 opuD2	7,58	20,04	2,64	SMD_1196 ribF	3,86	5,16	1,34	SMD_0266 coaX	5,87	6,11	1,04
SMD_1482 -	10,08	26,51	2,63	SMD_3722 -	5,54	7,40	1,34	SMD_1750 ggt	3,59	3,73	1,04
SMD_4205 -	5,31	13,92	2,62	SMD_3184 -	4,08	5,45	1,34	SMD_2992 trpB	5,43	5,65	1,04
SMD_3298 -	3,29	8,62	2,62	SMD_2605 phbC	3,00	4,01	1,34	SMD_3087 -	5,40	5,61	1,04
SMD_3992 -	8,63	22,58	2,62	SMD_3056 -	5,73	7,65	1,34	SMD_1270 -	4,01	4,17	1,04
SMD_2181 -	2,56	6,68	2,61	SMD_2783 -	3,63	4,85	1,34	SMD_0457 -	3,51	3,65	1,04
SMD_1212 -	7,09	18,50	2,61	SMD_2339 -	3,31	4,42	1,34	SMD_0034 -	4,13	4,29	1,04
SMD_3412 blal	9,49	24,71	2,60	SMD_0860 -	5,36	7,16	1,33	SMD_1830 smmH	5,76	5,99	1,04
SMD_2516 -	9,91	25,76	2,60	SMD_2457 -	4,02	5,37	1,33	SMD_3445 gmk	5,17	5,37	1,04
SMD_0322 dut	2,09	5,42	2,60	SMD_0933 mltD	7,24	9,67	1,33	SMD_3699 atpG	3,07	3,19	1,04
SMD_1912 spcN	3,06	7,91	2,58	SMD_1247 -	8,46	11,28	1,33	SMD_2942 -	6,14	6,38	1,04
SMD_2497 -	4,67	12,05	2,58	SMD_1202 -	3,41	4,55	1,33	SMD_2836 rluB	3,81	3,96	1,04
SMD_2627 -	3,85	9,92	2,58	SMD_1143 -	3,44	4,58	1,33	SMD_0592 -	4,87	5,06	1,04
SMD_3723 cirA	4,66	11,96	2,57	SMD_0823 -	5,16	6,87	1,33	SMD_0335 -	5,69	5,91	1,04
SMD_1378 -	2,52	6,44	2,56	SMD_0454 -	6,91	9,20	1,33	SMD_3897 -	5,09	5,28	1,04
SMD_2305 -	5,40	13,80	2,55	SMD_0282 -	4,57	6,08	1,33	SMD_1839 rpsA	3,08	3,20	1,04
SMD_1857 kefB2	4,08	10,41	2,55	SMD_4198 -	3,30	4,40	1,33	SMD_4008 -	7,62	7,91	1,04
SMD_3918 phaF	2,09	5,32	2,55	SMD_0043 tdk	6,10	8,11	1,33	SMD_1792 hrcA	5,04	5,23	1,04
SMD_0921 -	16,48	41,91	2,54	SMD_4083 -	5,07	6,75	1,33	SMD_2727 rpsR	3,84	3,98	1,04
SMD_2409 gspD	3,18	8,10	2,54	SMD_0606 -	6,98	9,29	1,33	SMD_3781 -	6,68	6,93	1,04
SMD_3935 -	5,40	13,72	2,54	SMD_3140 -	4,30	5,72	1,33	SMD_0146 -	9,40	9,74	1,04
SMD_1067 -	3,93	9,98	2,54	SMD_1765 smeW	3,64	4,84	1,33	SMD_2770 purB	4,96	5,14	1,04
SMD_2366 cusR	4,64	11,76	2,54	SMD_3559 -	4,26	5,66	1,33	SMD_3374 -	5,36	5,56	1,04
SMD_3592 -	8,92	22,62	2,54	SMD_2058 flil	2,48	3,30	1,33	SMD_0167 -	5,46	5,65	1,04
SMD_1022 -	5,63	14,24	2,53	SMD_0722 pip	3,96	5,26	1,33	SMD_1714 pcnB	4,12	4,27	1,04
SMD_2921 -	7,58	19,17	2,53	SMD_1856 -	2,99	3,97	1,33	SMD_2752 -	5,81	6,02	1,04
SMD_2838 -	5,16	13,01	2,52	SMD_1850 rlmN	3,21	4,27	1,33	SMD_0800 rplF	3,76	3,89	1,04
SMD_3246 -	4,03	10,15	2,52	SMD_1039 kdsD	4,58	6,09	1,33	SMD_3159 -	3,98	4,12	1,04
SMD_2195 -	3,01	7,57	2,52	SMD_0698 -	2,99	3,97	1,33	SMD_2606 -	3,83	3,97	1,03
SMD_0564 rimI	3,87	9,74	2,52	SMD_1054 -	3,42	4,54	1,33	SMD_0777 rplL	4,63	4,79	1,03
SMD_3578 -	5,46	13,72	2,52	SMD_2822 rluC	3,70	4,91	1,33	SMD_1372 macA	6,75	6,98	1,03
SMD_1871 -	2,69	6,75	2,51	SMD_3582 -	4,25	5,64	1,33	SMD_0604 -	4,04	4,18	1,03
SMD_2317 -	10,05	25,25	2,51	SMD_3530 pcm2	3,91	5,19	1,33	SMD_1998 dapB	3,56	3,68	1,03
SMD_4112 -	2,41	6,03	2,51	SMD_0654 metF	5,73	7,60	1,33	SMD_3419 -	3,81	3,94	1,03
SMD_3761 -	1,94	4,87	2,51	SMD_0290 -	5,15	6,83	1,33	SMD_3165 -	4,62	4,77	1,03
SMD_2533 -	3,08	7,72	2,50	SMD_4177 -	4,92	6,53	1,33	SMD_3508 -	4,57	4,73	1,03
SMD_3365 -	3,37	8,42	2,50	SMD_3361 -	4,19	5,55	1,33	SMD_3249 -	5,12	5,29	1,03
SMD_2009 -	1,94	4,84	2,50	SMD_2685 -	4,65	6,16	1,33	SMD_0649 lpxC	3,27	3,37	1,03
SMD_2423 -	2,20	5,49	2,49	SMD_0204 -	3,03	4,02	1,33	SMD_1898 -	3,84	3,96	1,03
SMD_3240 pilH2	7,12	17,70	2,49	SMD_0635 mraZ	5,22	6,91	1,33	SMD_0665 -	3,28	3,38	1,03
SMD_2508 -	6,03	14,99	2,48	SMD_1609 -	2,64	3,50	1,33	SMD_0806 rpsM	3,12	3,22	1,03
SMD_3430 -	4,48	11,12	2,48	SMD_2957 chiA2	3,66	4,86	1,33	SMD_2249 -	3,61	3,73	1,03
SMD_0394 -	3,78	9,38	2,48	SMD_2230 -	3,62	4,80	1,32	SMD_4093 -	3,52	3,63	1,03
SMD_3819 -	3,86	9,56	2,48	SMD_3444 rpoZ	5,51	7,30	1,32	SMD_3127 -	4,02	4,15	1,03
SMD_2125 fusA2	4,72	11,70	2,48	SMD_3453 selD	7,12	9,43	1,32	SMD_1472 pgsA	3,48	3,59	1,03
SMD_2503 -	8,08	19,98	2,47	SMD_0840 -	4,22	5,59	1,32	SMD_3355 sucC	2,91	3,00	1,03
SMD_2656 -	4,98	12,33	2,47	SMD_4075 -	19,06	25,23	1,32	SMD_2794 cspA2	3,89	4,01	1,03
SMD_0320 -	3,10	7,66	2,47	SMD_1382 pstA	15,44	20,43	1,32	SMD_0293 -	5,76	5,94	1,03
SMD_0432 -	4,25	10,48	2,47	SMD_0565 -	4,20	5,55	1,32	SMD_0810 rplQ	3,13	3,22	1,03
SMD_1667 -	2,00	4,93	2,47	SMD_2138 glnB2	2,25	2,98	1,32	SMD_0957 -	12,23	12,60	1,03
SMD_1260 -	2,50	6,15	2,47	SMD_2054 flpI	2,47	3,27	1,32	SMD_0748 -	4,95	5,09	1,03
SMD_2612 -	2,55	6,28	2,47	SMD_3772 waaE	4,88	6,46	1,32	SMD_0644 murC	3,06	3,16	1,03
SMD_2678 -	2,53	6,23	2,46	SMD_0061 -	5,19	6,87	1,32	SMD_2971 nuoJ	3,17	3,27	1,03
SMD_2845 -	3,36	8,27	2,46	SMD_2068 -	3,19	4,22	1,32	SMD_2766 -	3,48	3,58	1,03
SMD_2438 moaD	2,21	5,43	2,46	SMD_1939 thrA	5,83	7,71	1,32	SMD_1798 pdxK	4,49	4,62	1,03
SMD_3720 -	3,53	8,64	2,45	SMD_0244 -	4,47	5,91	1,32	SMD_2856 cydB	2,85	2,93	1,03
SMD_2259 msuE	5,50	13,49	2,45	SMD_3681 -	4,31	5,70	1,32	SMD_1333 uppS	3,76	3,87	1,03
SMD_0690 lemA	6,77	16,59	2,45	SMD_3623 -	4,04	5,33	1,32	SMD_1132 -	4,58	4,71	1,03
SMD_0878 tRNA-Asp	4,22	10,35	2,45	SMD_3357 hydG	4,78	6,31	1,32	SMD_1915 pyrD	4,14	4,26	1,03
SMD_4224 -	5,73	14,02	2,45	SMD_3346 otsA	4,37	5,77	1,32	SMD_3830 -	6,40	6,58	1,03
SMD_1828 -	3,93	9,60	2,44	SMD_2031 -	3,92	5,18	1,32	SMD_1985 -	3,53	3,63	1,03
SMD_1509 -	6,94	16,95	2,44	SMD_1416 corA	3,18	4,20	1,32	SMD_0817 typA	3,89	4,00	1,03
SMD_2657 -	6,45	15,74	2,44	SMD_0542 etfA	3,87	5,10	1,32	SMD_2600 -	4,69	4,82	1,03
SMD_3217 -	2,41	5,88	2,44	SMD_1669 ftsH	3,75	4,94	1,32	SMD_1729 zwf	5,05	5,19	1,03
SMD_0163 -	4,91	11,95	2,43	SMD_0815 -	5,06	6,67	1,32	SMD_1419 -	4,05	4,17	1,03
SMD_1579 -	2,84	6,89	2,42	SMD_0702 ostA	3,37	4,45	1,32	SMD_0571 -	5,05	5,19	1,03
SMD_1872 -	3,05	7,39	2,42	SMD_1275 creC	4,50	5,92	1,32	SMD_1726 edd	3,51	3,61	1,03
SMD_0582 xpsG	2,28	5,51	2,42	SMD_2069 rpoN2	4,86	6,40	1,32	SMD_3001 -	3,80	3,91	1,03
SMD_3825 -	10,22	24,64	2,41	SMD_1479 -	4,33	5,70	1,32	SMD_3473 thiE	4,12	4,23	1,03
SMD_1704 -	1,78	4,30	2,41	SMD_1505 -	6,68	8,80	1,32	SMD_2872 argE	4,06	4,17	1,03
SMD_1950 hisH	2,20	5,29	2,41	SMD_1807 -	3,43	4,52	1,32	SMD_2983 tpiA	4,79	4,92	1,03
SMD_0383 -	3,57	8,58	2,41	SMD_3875 smeK	4,73	6,23	1,32	SMD_1023 pyrB	4,69	4,82	1,03
SMD_2801 -	4,33	10,41	2,41	SMD_3997 -	5,64	7,42	1,32	SMD_1148 citG	2,71	2,78	1,03
SMD_1499 -	2,14	5,15	2,41	SMD_3134 -	5,95	7,83	1,32	SMD_4064 -	5,61	5,77	1,03
SMD_2011 -	2,51	6,04	2,40	SMD_0485 -	3,65	4,81	1,32	SMD_1720 -	4,66	4,79	1,03
SMD_3437 -	4,77	11,46	2,40	SMD_2694 -	5,21	6,85	1,31	SMD_0248 -	4,29	4,40	1,03

SMD_1993 -	1,84	4,42	2,40	SMD_2105 -	3,92	5,16	1,31	SMD_0837 -	4,24	4,35	1,03
SMD_3277 -	2,56	6,14	2,40	SMD_3049 -	4,25	5,58	1,31	SMD_3035 -	6,75	6,92	1,03
SMD_4231 yybP-ykoY	10,09	24,12	2,39	SMD_3901 -	4,63	6,09	1,31	SMD_1629 -	5,58	5,72	1,03
SMD_2229 -	1,76	4,19	2,38	SMD_1078 sufB	5,20	6,83	1,31	SMD_1467 lpxK	3,15	3,23	1,03
SMD_0292 -	7,12	16,95	2,38	SMD_0221 -	5,13	6,74	1,31	SMD_1713 tRNA-Glu	2,54	2,60	1,03
SMD_3344 otsB	5,28	12,54	2,38	SMD_2879 -	3,34	4,39	1,31	SMD_3567 -	4,41	4,52	1,03
SMD_0907 -	3,29	7,81	2,38	SMD_2661 -	3,89	5,12	1,31	SMD_1531 -	4,63	4,75	1,02
SMD_1513 -	3,49	8,27	2,37	SMD_1119 adrA	6,89	9,05	1,31	SMD_0994 -	3,91	4,00	1,02
SMD_1895 -	2,56	6,06	2,37	SMD_3755 -	3,35	4,41	1,31	SMD_4035 -	4,40	4,51	1,02
SMD_0443 -	4,00	9,45	2,36	SMD_3924 -	4,13	5,42	1,31	SMD_2080 flgK	4,04	4,14	1,02
SMD_0911 cusA4	7,84	18,51	2,36	SMD_0684 -	4,18	5,49	1,31	SMD_2065 fltE	2,99	3,06	1,02
SMD_4123 -	3,38	7,97	2,36	SMD_0474 -	4,81	6,32	1,31	SMD_2043 cheA2	3,55	3,64	1,02
SMD_4007 -	2,20	5,17	2,35	SMD_0731 -	4,39	5,77	1,31	SMD_3326 -	5,87	6,00	1,02
SMD_1931 -	2,94	6,90	2,35	SMD_1859 guaB	3,94	5,17	1,31	SMD_4114 -	4,43	4,53	1,02
SMD_4195 -	6,28	14,74	2,35	SMD_1847 -	2,72	3,57	1,31	SMD_3749 hnsB	2,60	2,66	1,02
SMD_0037 -	3,88	9,10	2,35	SMD_2017 fadD	4,53	5,94	1,31	SMD_0758 ychF	3,61	3,70	1,02
SMD_3553 -	4,31	10,10	2,34	SMD_2966 tRNA-fMet	4,68	6,14	1,31	SMD_4172 tatB	6,13	6,27	1,02
SMD_1756 -	11,99	28,08	2,34	SMD_4163 -	3,52	4,62	1,31	SMD_3152 Glycine.1	4,38	4,48	1,02
SMD_2991 -	2,23	5,22	2,34	SMD_2808 -	3,85	5,05	1,31	SMD_3062 ybeB	4,55	4,66	1,02
SMD_2126 -	7,19	16,78	2,33	SMD_3980 -	6,35	8,33	1,31	SMD_3611 -	4,04	4,14	1,02
SMD_3820 -	6,59	15,38	2,33	SMD_3653 -	3,39	4,45	1,31	SMD_1261 -	12,28	12,55	1,02
SMD_2321 -	4,14	9,65	2,33	SMD_1927 -	3,06	4,01	1,31	SMD_4102 -	4,48	4,58	1,02
SMD_0578 -	6,66	15,52	2,33	SMD_3269 -	7,71	10,11	1,31	SMD_4050 -	4,44	4,54	1,02
SMD_1147 -	3,18	7,42	2,33	SMD_3384 mscL	3,69	4,84	1,31	SMD_1842 -	3,97	4,06	1,02
SMD_0521 -	4,33	10,09	2,33	SMD_0886 -	3,53	4,63	1,31	SMD_0188 truC	6,20	6,34	1,02
SMD_0971 -	3,91	9,11	2,33	SMD_2325 -	4,79	6,28	1,31	SMD_2375 -	4,46	4,56	1,02
SMD_1460 -	3,85	8,95	2,32	SMD_2924 -	4,72	6,18	1,31	SMD_2745 -	3,31	3,37	1,02
SMD_0767 tRNA-Tyr	7,26	16,84	2,32	SMD_0223 pncA	4,59	6,02	1,31	SMD_0353 fadL	3,57	3,64	1,02
SMD_1773 hchA	10,17	23,54	2,31	SMD_3643 mrdA	3,21	4,20	1,31	SMD_1692 -	3,59	3,66	1,02
SMD_2927 -	4,08	9,41	2,31	SMD_0510 -	4,56	5,97	1,31	SMD_3834 accB	3,30	3,37	1,02
SMD_0392 -	5,37	12,34	2,30	SMD_0844 -	4,39	5,74	1,31	SMD_3172 -	8,34	8,50	1,02
SMD_1557 merT	3,29	7,57	2,30	SMD_0615 ribE	5,49	7,19	1,31	SMD_0433 -	8,73	8,90	1,02
SMD_3984 -	9,87	22,65	2,29	SMD_1013 pilT	5,65	7,40	1,31	SMD_2746 -	2,98	3,03	1,02
SMD_1459 -	5,48	12,56	2,29	SMD_3122 rumA	4,42	5,79	1,31	SMD_0802 rpsE	3,28	3,35	1,02
SMD_0460 -	4,38	10,04	2,29	SMD_2884 -	3,16	4,13	1,31	SMD_3516 -	3,96	4,04	1,02
SMD_2537 -	4,48	10,25	2,29	SMD_1426 -	5,11	6,69	1,31	SMD_2774 sucA	3,59	3,66	1,02
SMD_1310 -	2,44	5,57	2,29	SMD_2928 -	5,97	7,82	1,31	SMD_1645 pitA	3,83	3,90	1,02
SMD_0238 -	2,45	5,60	2,28	SMD_2885 -	3,53	4,62	1,31	SMD_2840 -	4,21	4,29	1,02
SMD_1072 -	2,41	5,50	2,28	SMD_1440 purK	3,79	4,95	1,31	SMD_0527 cbsB	4,04	4,12	1,02
SMD_3841 cdsA2	3,43	7,81	2,28	SMD_0217 -	4,23	5,53	1,31	SMD_1027 ptsI	4,26	4,34	1,02
SMD_3192 -	3,12	7,12	2,28	SMD_3307 -	3,82	4,99	1,31	SMD_3002 fimV	4,08	4,16	1,02
SMD_1978 -	2,13	4,85	2,28	SMD_0520 -	4,42	5,78	1,31	SMD_2714 -	4,19	4,26	1,02
SMD_1093 -	3,87	8,80	2,28	SMD_3449 fdhE	5,77	7,54	1,31	SMD_0482 lrp	6,11	6,22	1,02
SMD_2673 -	3,99	9,07	2,28	SMD_0659 -	5,65	7,38	1,31	SMD_1350 dapE	3,65	3,72	1,02
SMD_3227 -	2,08	4,72	2,28	SMD_3803 aroG	7,39	9,64	1,31	SMD_1300 -	5,99	6,09	1,02
SMD_2792 -	3,00	6,83	2,27	SMD_0904 phoB2	3,55	4,63	1,30	SMD_1144 -	9,20	9,36	1,02
SMD_2645 -	4,74	10,75	2,27	SMD_0079 -	4,25	5,55	1,30	SMD_0799 rpsH	3,91	3,97	1,02
SMD_1161 -	4,80	10,90	2,27	SMD_1408 -	4,18	5,45	1,30	SMD_3125 era	3,63	3,69	1,02
SMD_3785 -	4,00	9,05	2,26	SMD_1290 -	5,33	6,96	1,30	SMD_1919 -	3,62	3,68	1,02
SMD_3102 -	4,55	10,30	2,26	SMD_3133 -	4,50	5,88	1,30	SMD_3452 tRNA-seC	8,36	8,50	1,02
SMD_2314 -	4,25	9,61	2,26	SMD_0124 -	3,69	4,81	1,30	SMD_3261 -	10,16	10,33	1,02
SMD_1463 -	7,14	16,12	2,26	SMD_1224 -	3,97	5,17	1,30	SMD_4071 -	5,14	5,22	1,02
SMD_3347 -	3,23	7,28	2,26	SMD_3194 -	4,56	5,94	1,30	SMD_2538 -	5,94	6,03	1,02
SMD_3833 -	3,50	7,88	2,25	SMD_1075 -	2,92	3,80	1,30	SMD_3130 -	4,06	4,12	1,02
SMD_0418 -	2,32	5,23	2,25	SMD_1648 parE	2,99	3,89	1,30	SMD_2234 -	3,27	3,32	1,02
SMD_3864 -	2,49	5,60	2,25	SMD_2473 -	5,86	7,63	1,30	SMD_1584 -	3,33	3,38	1,02
SMD_2509 -	5,05	11,38	2,25	SMD_0299 -	5,70	7,42	1,30	SMD_1876 -	4,88	4,95	1,02
SMD_2597 -	5,09	11,46	2,25	SMD_3931 pdhB	3,03	3,95	1,30	SMD_2772 -	3,92	3,98	1,01
SMD_0673 dusB	4,83	10,84	2,25	SMD_0512 -	3,45	4,49	1,30	SMD_3703 atpE	3,97	4,03	1,01
SMD_2875 -	9,09	20,36	2,24	SMD_3359 pilA	3,83	4,98	1,30	SMD_0064 gltB	4,86	4,93	1,01
SMD_0284 -	2,97	6,66	2,24	SMD_0937 dnaQ	4,19	5,46	1,30	SMD_0770 tuf	3,87	3,93	1,01
SMD_0133 arsR	4,81	10,77	2,24	SMD_0087 -	3,43	4,47	1,30	SMD_1445 -	3,24	3,28	1,01
SMD_2179 C4.5	2,40	5,37	2,24	SMD_4049 -	3,82	4,97	1,30	SMD_0515 -	8,63	8,75	1,01
SMD_0915 -	5,72	12,79	2,24	SMD_3293 GpT	6,33	8,23	1,30	SMD_3808 -	6,53	6,62	1,01
SMD_0502 -	4,58	10,17	2,22	SMD_4160 hscC	4,90	6,37	1,30	SMD_4028 -	5,20	5,27	1,01
SMD_1670 -	1,92	4,26	2,22	SMD_0524 -	4,14	5,38	1,30	SMD_0357 -	10,70	10,84	1,01
SMD_2849 ccmH	2,44	5,41	2,22	SMD_0047 -	5,28	6,86	1,30	SMD_1735 sdhB	2,95	2,99	1,01
SMD_0129 -	3,82	8,47	2,22	SMD_3491 -	4,38	5,69	1,30	SMD_0092 sixA	6,34	6,42	1,01
SMD_3863 -	4,67	10,36	2,22	SMD_0302 -	3,89	5,05	1,30	SMD_2628 -	5,15	5,22	1,01
SMD_2309 -	3,48	7,71	2,22	SMD_2710 -	3,94	5,12	1,30	SMD_4026 -	7,17	7,26	1,01
SMD_2584 tRNA-Ala	4,89	10,83	2,21	SMD_2060 fljI	2,35	3,05	1,30	SMD_1551 -	3,66	3,71	1,01
SMD_2716 gcd	6,27	13,84	2,21	SMD_3632 -	6,36	8,26	1,30	SMD_2973 nuoH	3,09	3,13	1,01
SMD_3275 L	2,83	6,25	2,21	SMD_1533 -	4,06	5,27	1,30	SMD_3400 alfI	3,85	3,90	1,01
SMD_2426 -	6,36	14,00	2,20	SMD_1279 gltX	3,67	4,76	1,30	SMD_1197 ileS	3,59	3,64	1,01
SMD_4233 -	5,91	13,00	2,20	SMD_1495 -	5,65	7,33	1,30	SMD_1596 -	3,60	3,64	1,01
SMD_3422 -	6,17	13,55	2,20	SMD_1104 -	2,81	3,64	1,30	SMD_2110 -	5,46	5,53	1,01
SMD_2468 entC	3,85	8,44	2,20	SMD_2903 -	5,66	7,34	1,30	SMD_4099 -	3,23	3,27	1,01
SMD_0514 ptpS	3,43	7,53	2,20	SMD_1972 mtbB	3,83	4,97	1,30	SMD_0096 plcC	6,39	6,47	1,01
SMD_0622 C4.9	4,23	9,28	2,19	SMD_1145 -	8,14	10,55	1,30	SMD_4159 -	3,87	3,92	1,01
SMD_0956 -	9,12	20,02	2,19	SMD_4076 rctB	13,37	17,32	1,30	SMD_3868 icd	4,39	4,44	1,01
SMD_2542 -	1,84	4,04	2,19	SMD_1060 -	4,29	5,56	1,30	SMD_1052 -	3,66	3,70	1,01
SMD_3913 -	4,05	8,87	2,19	SMD_0771 tRNA-Trp	5,28	6,84	1,30	SMD_2626 -	3,90	3,94	1,01
SMD_1065 -	3,98	8,71	2,19	SMD_3620 -	5,02	6,50	1,29	SMD_3479 -	5,01	5,06	1,01
SMD_2534 -	2,79	6,09	2,19	SMD_0943 -	6,19	8,01	1,29	SMD_0607 glyA	5,09	5,14	1,01
SMD_0944 -	5,66	12,35	2,18	SMD_2686 -	7,50	9,71	1,29	SMD_2562 -	9,73	9,83	1,01
SMD_1364 -	5,78	12,60	2,18	SMD_2938 -	5,31	6,86	1,29	SMD_1411 potF	3,48	3,51	1,01
SMD_2762 -	4,32	9,41	2,18	SMD_3668 ptrB	4,13	5,34	1,29	SMD_3977 cyoC2	9,64	9,74	1,01
SMD_2273 -	2,91	6,33	2,18	SMD_0308 -	8,50	10,96	1,29	SMD_3313 tolQ	4,43	4,48	1,01
SMD_0461 -	2,67	5,81	2,17	SMD_2781 dnaB	4,70	6,07	1,29	SMD_2968 nuoM	2,85	2,88	1,01
SMD_2033 cheW	1,88	4,08	2,17	SMD_2902 yjeF	4,11	5,30	1,29	SMD_3724 -	8,68	8,76	1,01
SMD_2387 -	6,31	13,71	2,17	SMD_4181 tRNA-Ala	3,55	4,57	1,29	SMD_3638 dacC	3,61	3,64	1,01
SMD_2024 -	3,30	7,16	2,17	SMD_4022 smeB	6,70	8,64	1,29	SMD_3231 bioA	4,38	4,42	1,01
SMD_2653 -	4,47	9,70	2,17	SMD_2113 ftsK	3,90	5,02	1,29	SMD_2119 iroE	6,79	6,85	1,01
SMD_2549 -	4,16	9,03	2,17	SMD_1633 wbpO	4,02	5,18	1,29	SMD_2967 nuoN	2,96	2,99	1,01
SMD_2066 -	3,27	7,07	2,16	SMD_0258 -	4,28	5,51	1,29	SMD_0121 hemD	5,54	5,58	1,01

SMD_0362 -	5,15	11,13	2,16	SMD_2638 virB9	3,41	4,40	1,29	SMD_2813 -	6,83	6,88	1,01
SMD_4058 -	2,64	5,70	2,16	SMD_0992 -	5,79	7,45	1,29	SMD_4153 -	6,42	6,47	1,01
SMD_3853 ftsX	4,42	9,52	2,16	SMD_0024 -	9,39	12,09	1,29	SMD_2753 methH2	4,97	5,01	1,01
SMD_1930 -	3,47	7,48	2,15	SMD_1328 lpxD	3,36	4,33	1,29	SMD_3438 gltA	3,27	3,30	1,01
SMD_3197 -	3,46	7,46	2,15	SMD_2706 -	4,21	5,42	1,29	SMD_1843 wbpL	4,38	4,41	1,01
SMD_0557 -	5,04	10,85	2,15	SMD_1131 -	5,45	7,02	1,29	SMD_1033 yhbH	4,14	4,17	1,01
SMD_2289 -	7,50	16,09	2,15	SMD_3124 recO	3,67	4,73	1,29	SMD_4150 -	5,04	5,07	1,01
SMD_1715 folK	2,25	4,83	2,15	SMD_0331 ampN	4,25	5,47	1,29	SMD_0980 acpP	3,25	3,27	1,01
SMD_1042 -	4,71	10,10	2,15	SMD_0744 wrbA	4,90	6,31	1,29	SMD_3328 ampR	3,78	3,80	1,01
SMD_0912 -	10,41	22,32	2,14	SMD_2893 suhB	5,59	7,20	1,29	SMD_3089 phnA	4,00	4,02	1,01
SMD_1547 -	3,49	7,49	2,14	SMD_0080 -	4,70	6,05	1,29	SMD_1305 -	5,50	5,53	1,01
SMD_0768 tRNA-Gly	6,83	14,62	2,14	SMD_0995 -	3,30	4,24	1,29	SMD_1797 -	5,26	5,28	1,01
SMD_2520 -	6,89	14,75	2,14	SMD_2959 rpsO	3,69	4,75	1,29	SMD_0011 exbD3	3,15	3,17	1,01
SMD_1536 -	3,33	7,13	2,14	SMD_2430 cysJ	3,92	5,05	1,29	SMD_3345 -	7,30	7,33	1,00
SMD_0633 -	8,98	19,22	2,14	SMD_2382 -	8,71	11,21	1,29	SMD_1615 -	3,39	3,40	1,00
SMD_2935 -	4,17	8,92	2,14	SMD_2030 -	7,22	9,29	1,29	SMD_0309 -	4,32	4,34	1,00
SMD_2089 cheV	8,39	17,95	2,14	SMD_4042 -	4,56	5,87	1,29	SMD_4168 -	6,10	6,12	1,00
SMD_4000 -	4,85	10,37	2,14	SMD_4148 gidB	6,57	8,45	1,29	SMD_0107 ampDII	5,56	5,58	1,00
SMD_1255 -	3,58	7,66	2,14	SMD_2421 -	2,57	3,30	1,29	SMD_0265 birA	6,56	6,58	1,00
SMD_3507 -	2,25	4,81	2,14	SMD_1855 engA	3,04	3,91	1,29	SMD_0139 -	4,81	4,83	1,00
SMD_3558 -	4,50	9,61	2,14	SMD_2860 -	4,89	6,29	1,29	SMD_1966 -	3,00	3,01	1,00
SMD_1263 -	2,66	5,68	2,13	SMD_1949 hisB	2,12	2,72	1,29	SMD_2841 -	4,01	4,02	1,00
SMD_3314 -	4,06	8,65	2,13	SMD_1603 -	4,75	6,10	1,29	SMD_3678 -	4,11	4,12	1,00
SMD_2505 -	2,52	5,37	2,13	SMD_1187 -	3,75	4,82	1,29	SMD_1490 copB	4,09	4,10	1,00
SMD_3754 -	4,26	9,07	2,13	SMD_2016 rpF	5,16	6,63	1,28	SMD_3670 -	3,79	3,80	1,00
SMD_3210 mtgA	7,17	15,25	2,13	SMD_3536 -	5,48	7,04	1,28	SMD_2827 -	4,52	4,53	1,00
SMD_1982 smeY	3,58	7,61	2,13	SMD_1940 thrB	3,45	4,43	1,28	SMD_0808 rpsD	3,22	3,23	1,00
SMD_0765 -	5,50	11,69	2,13	SMD_1520 -	3,96	5,09	1,28	SMD_0660 -	5,26	5,27	1,00
SMD_3919 phaG	2,82	5,99	2,13	SMD_0020 -	6,04	7,76	1,28	SMD_1959 -	4,38	4,39	1,00
SMD_2778 -	2,52	5,35	2,12	SMD_2298 -	3,95	5,08	1,28	SMD_1835 -	4,42	4,42	1,00
SMD_1205 -	4,05	8,59	2,12	SMD_2725 smc	3,80	4,87	1,28	SMD_1570 -	9,48	9,49	1,00
SMD_1302 -	6,24	13,23	2,12	SMD_1223 ffh	4,11	5,27	1,28	SMD_2145 nadE2	3,30	3,30	1,00
SMD_3131 rseA	9,84	20,85	2,12	SMD_1384 pstS	4,95	6,36	1,28	SMD_2800 -	3,89	3,89	1,00
SMD_0487 -	5,62	11,89	2,12	SMD_3265 -	6,40	8,21	1,28	SMD_0782 fusA	3,31	3,31	1,00
SMD_0324 kdpE	5,36	11,35	2,12	SMD_3636 -	6,39	8,20	1,28	SMD_2084 flgF	3,08	3,08	1,00
SMD_2483 -	4,36	9,22	2,11	SMD_2901 amiC	6,09	7,81	1,28	SMD_1253 dat	3,21	3,21	1,00
SMD_1868 -	2,40	5,07	2,11	SMD_1583 -	3,22	4,13	1,28	SMD_1433 sspA	3,88	3,88	1,00
SMD_0880 -	7,32	15,43	2,11	SMD_0176 dhaA	4,68	6,00	1,28	SMD_0233 mmsB	4,48	4,48	1,00
SMD_0851 phoR	3,56	7,48	2,10	SMD_2487 nrdE	5,50	7,05	1,28	SMD_1214 cyoB	3,29	3,28	1,00
SMD_3456 -	2,88	6,04	2,10	SMD_1800 -	4,53	5,81	1,28	SMD_2776 odhL	2,97	2,97	1,00
SMD_0953 -	9,22	19,36	2,10	SMD_2343 -	6,11	7,83	1,28	SMD_1710 -	3,79	3,79	1,00
SMD_1712 xylE2	4,30	9,02	2,10	SMD_1330 -	3,18	4,07	1,28	SMD_3890 bfr2	5,16	5,15	1,00
SMD_2308 -	8,74	18,35	2,10	SMD_1515 -	4,48	5,74	1,28	SMD_3224 gcvH	3,68	3,67	1,00
SMD_2494 -	2,83	5,94	2,10	SMD_2757 -	3,13	4,01	1,28	SMD_1452 pilE	3,56	3,55	1,00
SMD_1614 -	3,49	7,32	2,09	SMD_3923 hmgA	3,20	4,10	1,28	SMD_3685 glmS	4,16	4,14	1,00
SMD_3979 cyoA2	9,32	19,51	2,09	SMD_0316 -	4,76	6,10	1,28	SMD_3954 -	4,80	4,79	1,00
SMD_1454 fimT	5,48	11,47	2,09	SMD_2286 -	16,69	21,38	1,28	SMD_0374 rpsU	5,36	5,34	1,00
SMD_4079 -	9,74	20,37	2,09	SMD_1578 -	4,57	5,86	1,28	SMD_1166 minE	3,42	3,41	1,00
SMD_2693 -	2,24	4,68	2,09	SMD_2236 -	3,84	4,92	1,28	SMD_1234 -	7,94	7,90	0,99
SMD_2932 -	4,38	9,13	2,09	SMD_4176 -	4,81	6,15	1,28	SMD_3871 -	5,73	5,70	0,99
SMD_4098 -	1,88	3,91	2,09	SMD_3405 -	4,74	6,06	1,28	SMD_3709 DLAT	4,28	4,25	0,99
SMD_2198 -	3,82	7,96	2,08	SMD_0579 -	5,89	7,53	1,28	SMD_3693 -	4,56	4,54	0,99
SMD_3602 exbD5	4,51	9,39	2,08	SMD_4192 -	4,00	5,11	1,28	SMD_3377 thiS	5,80	5,76	0,99
SMD_2373 -	4,46	9,24	2,07	SMD_3229 cysQ	4,29	5,48	1,28	SMD_2144 -	2,86	2,84	0,99
SMD_0575 chiA	4,68	9,71	2,07	SMD_4212 -	5,88	7,52	1,28	SMD_3126 rnc	3,37	3,35	0,99
SMD_3961 -	6,30	13,05	2,07	SMD_3283 J	9,11	11,63	1,28	SMD_3962 C4.7	3,74	3,72	0,99
SMD_0999 -	3,35	6,94	2,07	SMD_0976 fabH2	3,52	4,49	1,28	SMD_0475 -	4,13	4,10	0,99
SMD_3302 -	4,82	9,98	2,07	SMD_1036 -	4,17	5,33	1,28	SMD_1374 -	4,73	4,70	0,99
SMD_0858 -	7,71	15,96	2,07	SMD_0550 lpsI	4,16	5,31	1,28	SMD_3698 atpD	3,13	3,11	0,99
SMD_1697 -	2,34	4,84	2,06	SMD_2993 -	3,63	4,64	1,28	SMD_0082 -	3,84	3,81	0,99
SMD_2564 -	4,10	8,46	2,06	SMD_3627 -	4,82	6,16	1,28	SMD_4052 -	4,37	4,34	0,99
SMD_4074 -	5,24	10,83	2,06	SMD_0871 clpX	3,53	4,50	1,28	SMD_0977 -	5,35	5,31	0,99
SMD_1217 -	4,27	8,79	2,06	SMD_3999 -	8,81	11,24	1,28	SMD_1064 -	4,22	4,19	0,99
SMD_0013 -	6,92	14,23	2,06	SMD_3617 -	4,40	5,61	1,28	SMD_2920 -	4,07	4,03	0,99
SMD_3103 -	4,00	8,18	2,05	SMD_1924 -	4,58	5,84	1,28	SMD_2975 nuoF	3,00	2,98	0,99
SMD_3983 -	8,19	16,71	2,04	SMD_3692 -	4,49	5,73	1,28	SMD_3899 speD	4,23	4,20	0,99
SMD_3137 -	4,16	8,48	2,04	SMD_3654 -	3,61	4,60	1,28	SMD_3376 -	3,87	3,84	0,99
SMD_1474 -	8,27	16,88	2,04	SMD_0286 -	7,80	9,95	1,27	SMD_3700 atpA	3,45	3,42	0,99
SMD_1889 -	2,14	4,36	2,04	SMD_2665 -	3,52	4,48	1,27	SMD_3651 ubiE	5,67	5,62	0,99
SMD_3861 -	6,04	12,25	2,03	SMD_1974 -	3,61	4,60	1,27	SMD_2146 -	3,49	3,46	0,99
SMD_3411 -	4,30	8,72	2,03	SMD_1485 copD	3,55	4,52	1,27	SMD_2139 cusA2	3,04	3,01	0,99
SMD_0131 -	5,04	10,21	2,03	SMD_3648 -	4,00	5,09	1,27	SMD_0914 -	4,40	4,36	0,99
SMD_1874 -	3,37	6,81	2,02	SMD_2127 -	3,74	4,76	1,27	SMD_0276 arcA	3,92	3,88	0,99
SMD_3086 -	4,62	9,36	2,02	SMD_3121 -	4,53	5,76	1,27	SMD_0686 -	7,71	7,63	0,99
SMD_2715 -	5,62	11,35	2,02	SMD_4162 -	3,61	4,59	1,27	SMD_0835 tdh	3,88	3,85	0,99
SMD_1046 -	2,95	5,96	2,02	SMD_0458 -	3,37	4,28	1,27	SMD_1717 panC	4,23	4,18	0,99
SMD_0197 -	8,07	16,31	2,02	SMD_3109 -	4,29	5,46	1,27	SMD_4239 rpmH	5,95	5,89	0,99
SMD_0427 -	2,13	4,29	2,02	SMD_1525 -	3,67	4,67	1,27	SMD_0759 -	5,98	5,91	0,99
SMD_2045 cheY2	1,94	3,90	2,01	SMD_2485 -	4,19	5,33	1,27	SMD_3352 -	4,95	4,90	0,99
SMD_2102 -	2,13	4,29	2,01	SMD_0727 -	3,72	4,72	1,27	SMD_0252 -	5,22	5,17	0,99
SMD_0423 -	5,87	11,79	2,01	SMD_1158 -	10,00	12,71	1,27	SMD_4145 -	4,04	3,99	0,99
SMD_2622 -	3,36	6,75	2,01	SMD_3406 gap	3,81	4,84	1,27	SMD_1573 -	8,16	8,08	0,99
SMD_2747 -	3,62	7,25	2,00	SMD_2946 himA	3,52	4,47	1,27	SMD_3952 speE	4,05	4,00	0,99
SMD_4085 -	5,71	11,43	2,00	SMD_3237 frzE	5,60	7,10	1,27	SMD_0528 metC	4,00	3,95	0,99
SMD_1288 ogt	2,99	5,99	2,00	SMD_3155 -	4,78	6,07	1,27	SMD_1173 -	3,59	3,55	0,99
SMD_1278 -	3,03	6,06	2,00	SMD_3205 prfC	4,10	5,20	1,27	SMD_0569 pepA	4,44	4,39	0,99
SMD_0403 -	6,01	12,03	2,00	SMD_3905 pabA	4,54	5,76	1,27	SMD_4218 btuE	3,49	3,45	0,99
SMD_4062 cbpD2	7,36	14,73	2,00	SMD_4221 -	7,09	8,99	1,27	SMD_2014 rpG	3,96	3,91	0,99
SMD_2290 -	10,35	20,69	2,00	SMD_1319 -	3,50	4,43	1,27	SMD_0662 -	5,06	4,99	0,99
SMD_3022 clcD	3,49	6,97	2,00	SMD_3171 cbpA	3,54	4,49	1,27	SMD_2877 cysS	4,91	4,85	0,99
SMD_4121 -	5,05	10,09	2,00	SMD_3335 -	4,06	5,14	1,27	SMD_0026 eda	5,86	5,78	0,99
SMD_2519 cpo	4,59	9,18	2,00	SMD_3243 -	4,60	5,82	1,27	SMD_1789 -	5,09	5,02	0,99
SMD_2242 -	2,58	5,15	2,00	SMD_2418 -	7,88	9,98	1,27	SMD_3805 -	8,11	8,00	0,99
SMD_3433 cblB	7,13	14,24	2,00	SMD_3139 -	2,18	2,76	1,27	SMD_3540 -	4,61	4,55	0,99
SMD_1307 agp	4,11	8,20	2,00	SMD_1236 -	4,33	5,48	1,27	SMD_0173 -	4,50	4,43	0,98

SMD_1707 -	2,23	4,45	1,99	SMD_0437 -	6,25	7,91	1,27	SMD_1192 rpmA	3,71	3,66	0,98
SMD_1484 -	2,31	4,60	1,99	SMD_1488 -	2,54	3,21	1,27	SMD_3702 atpF	3,97	3,91	0,98
SMD_0365 -	4,85	9,64	1,99	SMD_2892 trmJ	5,14	6,50	1,27	SMD_2850 cycH	4,50	4,43	0,98
SMD_1841 -	4,84	9,62	1,99	SMD_0981 fabF	3,38	4,28	1,26	SMD_3898 sugE2	4,96	4,88	0,98
SMD_4005 nagA2	3,41	6,78	1,99	SMD_0369 -	5,33	6,74	1,26	SMD_0401 -	4,97	4,89	0,98
SMD_3211 hslO	3,28	6,51	1,98	SMD_0707 ubiF	4,30	5,44	1,26	SMD_0617 ribH	5,06	4,98	0,98
SMD_0160 -	5,92	11,75	1,98	SMD_0754 tRNA-Gln	5,01	6,33	1,26	SMD_2041 motB2	3,89	3,82	0,98
SMD_1169 -	3,40	6,74	1,98	SMD_2076 fltC	3,86	4,89	1,26	SMD_4070 hrpB	5,64	5,54	0,98
SMD_1605 -	2,71	5,37	1,98	SMD_3331 -	5,29	6,69	1,26	SMD_3442 -	4,42	4,34	0,98
SMD_1548 -	6,75	13,38	1,98	SMD_0001 dnaA	4,79	6,05	1,26	SMD_4054 -	5,16	5,07	0,98
SMD_3119 nagZ	4,56	9,02	1,98	SMD_1657 ispD	3,21	4,06	1,26	SMD_1760 -	5,02	4,94	0,98
SMD_0448 -	2,17	4,29	1,98	SMD_1281 -	3,81	4,82	1,26	SMD_3030 -	3,27	3,21	0,98
SMD_3929 -	4,27	8,45	1,98	SMD_3837 -	4,36	5,51	1,26	SMD_1748 -	3,40	3,34	0,98
SMD_1272 -	3,81	7,53	1,98	SMD_2294 -	4,99	6,30	1,26	SMD_3461 pepQ	4,51	4,43	0,98
SMD_1001 -	3,91	7,72	1,97	SMD_0517 rhlE	9,16	11,55	1,26	SMD_0664 sahH	3,57	3,51	0,98
SMD_2349 -	5,98	11,79	1,97	SMD_3878 aas	5,35	6,75	1,26	SMD_0647 ftsA	2,89	2,83	0,98
SMD_1777 -	5,81	11,46	1,97	SMD_0128 -	6,69	8,44	1,26	SMD_3463 -	3,88	3,81	0,98
SMD_2428 glgA	14,25	28,06	1,97	SMD_1274 creB	6,96	8,78	1,26	SMD_2728 rpsF	3,71	3,64	0,98
SMD_3707 -	5,60	11,03	1,97	SMD_4122 polA	4,30	5,42	1,26	SMD_0584 xpsI	4,11	4,03	0,98
SMD_1127 -	3,90	7,68	1,97	SMD_0720 ahpC	7,44	9,38	1,26	SMD_0287 rarD	5,24	5,14	0,98
SMD_3715 -	4,32	8,50	1,97	SMD_2193 -	4,24	5,35	1,26	SMD_0245 -	5,30	5,20	0,98
SMD_3114 -	2,06	4,05	1,97	SMD_0378 -	4,43	5,58	1,26	SMD_1716 panB	4,06	3,98	0,98
SMD_0847 pimB	4,44	8,72	1,97	SMD_3555 -	5,58	7,03	1,26	SMD_0495 -	5,29	5,18	0,98
SMD_4180 tRNA-Ile	3,17	6,23	1,97	SMD_0753 ipk	3,66	4,62	1,26	SMD_3436 cblA	7,96	7,80	0,98
SMD_0696 -	3,32	6,52	1,96	SMD_3174 pbpC	3,19	4,02	1,26	SMD_3158 -	4,05	3,96	0,98
SMD_2258 metR	3,93	7,72	1,96	SMD_1392 -	3,98	5,01	1,26	SMD_1146 -	6,27	6,13	0,98
SMD_3862 -	9,12	17,90	1,96	SMD_1502 -	4,26	5,37	1,26	SMD_0570 -	6,39	6,25	0,98
SMD_1762 smeRv	3,81	7,49	1,96	SMD_2012 ilvK	4,38	5,51	1,26	SMD_0206 -	3,29	3,22	0,98
SMD_1295 -	3,99	7,83	1,96	SMD_1025 -	7,52	9,46	1,26	SMD_1076 sufD	3,88	3,79	0,98
SMD_0325 kdpD	3,56	6,97	1,96	SMD_0183 yaiO	3,97	4,99	1,26	SMD_0776 rplJ	4,97	4,86	0,98
SMD_0522 -	10,81	21,18	1,96	SMD_2986 -	3,47	4,36	1,26	SMD_0970 -	4,77	4,67	0,98
SMD_2702 -	3,50	6,86	1,96	SMD_3975 -	6,81	8,55	1,26	SMD_1056 -	3,80	3,71	0,98
SMD_3762 -	5,83	11,41	1,96	SMD_4132 rpmB	5,07	6,38	1,26	SMD_0408 -	5,29	5,17	0,98
SMD_0671 -	3,44	6,74	1,96	SMD_3634 lipA	4,40	5,52	1,26	SMD_2780 -	6,06	5,93	0,98
SMD_0725 -	10,99	21,48	1,95	SMD_0597 mrkC	3,85	4,83	1,26	SMD_2157 -	3,16	3,08	0,98
SMD_2093 -	3,04	5,94	1,95	SMD_1730 -	5,04	6,32	1,26	SMD_1345 map	3,64	3,55	0,98
SMD_0863 tRNA-Arg	2,57	5,01	1,95	SMD_1306 -	3,74	4,70	1,26	SMD_1524 -	2,43	2,38	0,98
SMD_2525 -	4,54	8,86	1,95	SMD_2900 mutL	6,11	7,68	1,26	SMD_2247 -	6,30	6,15	0,98
SMD_0422 -	6,05	11,80	1,95	SMD_2743 -	4,40	5,53	1,26	SMD_0982 -	4,11	4,01	0,98
SMD_1902 -	4,73	9,22	1,95	SMD_2111 -	4,34	5,45	1,26	SMD_0533 -	2,92	2,85	0,98
SMD_0060 -	3,22	6,25	1,94	SMD_1988 hmgCL	3,85	4,83	1,25	SMD_2624 -	4,40	4,29	0,98
SMD_2219 -	5,49	10,65	1,94	SMD_2985 -	5,14	6,45	1,25	SMD_0783 tuf2	3,27	3,19	0,98
SMD_1875 -	2,49	4,82	1,94	SMD_2008 prfB	3,10	3,90	1,25	SMD_3616 -	8,09	7,89	0,98
SMD_1594 -	2,48	4,80	1,94	SMD_2868 argH	3,05	3,82	1,25	SMD_3852 -	4,10	4,00	0,98
SMD_3284 I	5,17	10,02	1,94	SMD_3928 -	3,31	4,15	1,25	SMD_2914 -	9,88	9,63	0,97
SMD_3675 -	5,46	10,58	1,94	SMD_3321 -	3,35	4,20	1,25	SMD_0807 rpsK	3,24	3,16	0,97
SMD_1489 copG	2,97	5,75	1,94	SMD_1788 fur	4,04	5,06	1,25	SMD_4200 -	4,01	3,90	0,97
SMD_0073 -	4,60	8,89	1,93	SMD_2768 -	3,82	4,78	1,25	SMD_1809 tgt	4,30	4,19	0,97
SMD_1291 -	2,24	4,32	1,93	SMD_0882 -	4,78	5,99	1,25	SMD_0828 -	7,31	7,11	0,97
SMD_1607 -	4,66	8,99	1,93	SMD_1787 -	5,00	6,27	1,25	SMD_2864 hmsS	3,36	3,27	0,97
SMD_4214 -	3,66	7,05	1,93	SMD_2226 fruK	1,93	2,42	1,25	SMD_1282 -	7,51	7,30	0,97
SMD_2283 -	5,39	10,38	1,93	SMD_1162 -	3,91	4,89	1,25	SMD_3505 ppa	3,76	3,66	0,97
SMD_0399 glnE	4,25	8,17	1,92	SMD_1703 thiD	4,43	5,54	1,25	SMD_1741 -	4,35	4,23	0,97
SMD_1700 tRNA-Arg	7,62	14,65	1,92	SMD_3332 -	4,70	5,88	1,25	SMD_1347 dapD	3,18	3,09	0,97
SMD_4092 -	1,93	3,71	1,92	SMD_1862 hsdR	4,12	5,16	1,25	SMD_1037 -	3,64	3,54	0,97
SMD_4081 -	18,12	34,80	1,92	SMD_1827 -	4,06	5,07	1,25	SMD_3387 -	4,20	4,08	0,97
SMD_1806 -	5,30	10,18	1,92	SMD_2894 htpX	5,57	6,97	1,25	SMD_0379 bglX	3,87	3,76	0,97
SMD_3199 sdaA	3,78	7,26	1,92	SMD_3189 aroB	4,26	5,33	1,25	SMD_0595 fimA	3,70	3,59	0,97
SMD_3092 -	5,69	10,91	1,92	SMD_1051 -	4,41	5,51	1,25	SMD_3259 -	6,97	6,76	0,97
SMD_0623 -	4,50	8,61	1,92	SMD_2843 ccmB	5,19	6,48	1,25	SMD_1215 cyoC	3,21	3,12	0,97
SMD_2654 -	2,94	5,64	1,92	SMD_3645 mreC	4,10	5,12	1,25	SMD_3657 smeE	4,15	4,02	0,97
SMD_1298 -	4,36	8,35	1,92	SMD_0568 holC	3,80	4,74	1,25	SMD_1851 pilF	4,24	4,11	0,97
SMD_2026 -	3,92	7,51	1,91	SMD_1421 -	3,31	4,12	1,25	SMD_3117 mtaP	4,37	4,24	0,97
SMD_3752 -	4,00	7,66	1,91	SMD_2995 -	3,33	4,15	1,25	SMD_0491 -	3,59	3,47	0,97
SMD_1632 -	2,56	4,90	1,91	SMD_1977 -	4,54	5,66	1,25	SMD_3776 fmt	5,83	5,64	0,97
SMD_1154 -	3,71	7,10	1,91	SMD_4167 glyQ	4,79	5,98	1,25	SMD_1021 yqgE	6,14	5,94	0,97
SMD_3573 -	4,87	9,32	1,91	SMD_1293 -	4,47	5,58	1,25	SMD_1630 hemN	5,54	5,35	0,97
SMD_3386 -	3,44	6,57	1,91	SMD_0086 -	3,42	4,26	1,25	SMD_0033 -	4,68	4,53	0,97
SMD_0044 -	4,97	9,48	1,91	SMD_2272 -	4,98	6,21	1,25	SMD_2149 -	3,73	3,61	0,97
SMD_2291 -	16,84	32,09	1,91	SMD_1237 katA2	4,86	6,05	1,25	SMD_2976 nuoE	2,95	2,85	0,97
SMD_1248 map2	7,47	14,23	1,91	SMD_2789 -	5,69	7,08	1,25	SMD_1284 -	5,84	5,64	0,96
SMD_0193 -	5,45	10,38	1,90	SMD_3460 -	4,78	5,95	1,25	SMD_1188 -	3,80	3,67	0,96
SMD_2482 -	3,60	6,86	1,90	SMD_3770 -	5,57	6,94	1,25	SMD_1266 -	10,15	9,79	0,96
SMD_0184 -	4,79	9,11	1,90	SMD_0561 -	4,36	5,43	1,24	SMD_1429 -	7,88	7,60	0,96
SMD_1690 plcC	3,26	6,20	1,90	SMD_4063 -	4,45	5,54	1,24	SMD_3015 -	4,91	4,74	0,96
SMD_3497 -	4,53	8,60	1,90	SMD_1776 -	3,85	4,79	1,24	SMD_2078 flgJ	3,06	2,95	0,96
SMD_3216 fadE	4,80	9,11	1,90	SMD_3851 ung	3,70	4,61	1,24	SMD_1968 -	3,01	2,89	0,96
SMD_0089 -	5,99	11,36	1,90	SMD_1367 rnr	3,30	4,10	1,24	SMD_4217 -	4,06	3,91	0,96
SMD_4073 -	4,62	8,76	1,90	SMD_0285 -	4,47	5,56	1,24	SMD_1523 -	4,12	3,96	0,96
SMD_3501 -	2,81	5,33	1,89	SMD_2954 -	2,55	3,17	1,24	SMD_2023 -	5,18	4,99	0,96
SMD_1610 -	3,60	6,80	1,89	SMD_3774 -	4,63	5,76	1,24	SMD_2048 flhF	3,45	3,32	0,96
SMD_4227 -	6,98	13,22	1,89	SMD_2730 sufA	4,52	5,62	1,24	SMD_2100 -	3,51	3,37	0,96
SMD_3995 ubiA	4,23	8,01	1,89	SMD_0157 -	4,42	5,49	1,24	SMD_3082 rnfB	4,12	3,96	0,96
SMD_3538 -	5,02	9,48	1,89	SMD_3144 -	4,35	5,40	1,24	SMD_1468 kdsB	3,43	3,30	0,96
SMD_2324 pip2	4,35	8,22	1,89	SMD_0336 tyrS	4,09	5,08	1,24	SMD_3198 -	4,36	4,18	0,96
SMD_1048 -	3,31	6,25	1,89	SMD_2109 aat	4,16	5,17	1,24	SMD_2748 smeG	3,61	3,46	0,96
SMD_0852 phoB	6,16	11,63	1,89	SMD_2333 -	4,86	6,04	1,24	SMD_2070 -	5,18	4,97	0,96
SMD_4072 rluE	4,75	8,96	1,89	SMD_3622 -	5,61	6,97	1,24	SMD_0194 -	24,55	23,54	0,96
SMD_3286 -	2,88	5,42	1,88	SMD_3285 -	6,95	8,63	1,24	SMD_2633 -	3,19	3,06	0,96
SMD_2750 -	2,01	3,79	1,88	SMD_0249 -	3,47	4,31	1,24	SMD_3550 citM	4,45	4,26	0,96
SMD_3094 -	15,32	28,86	1,88	SMD_0314 -	4,89	6,06	1,24	SMD_0752 -	4,05	3,88	0,96
SMD_2929 -	2,28	4,29	1,88	SMD_2223 -	4,22	5,24	1,24	SMD_1989 -	5,65	5,41	0,96
SMD_3415 -	5,69	10,71	1,88	SMD_1331 dxr	3,01	3,74	1,24	SMD_0699 ksgA	4,01	3,84	0,96
SMD_0068 -	4,58	8,62	1,88	SMD_0931 trbI	5,64	7,00	1,24	SMD_1556 merP	2,61	2,50	0,96
SMD_1082 -	5,65	10,62	1,88	SMD_0242 -	5,07	6,29	1,24	SMD_3904 trpD	4,49	4,29	0,96

SMD_2116 -	3,79	7,12	1,88	SMD_4127 uvrD	4,75	5,88	1,24	SMD_2775 sucB	3,32	3,17	0,96
SMD_3556 -	4,33	8,12	1,88	SMD_1781 -	3,96	4,91	1,24	SMD_2028 cheD	4,32	4,13	0,96
SMD_2364 copC2	5,78	10,84	1,88	SMD_1227 rimM	4,07	5,05	1,24	SMD_1388 -	2,65	2,54	0,96
SMD_2391 -	9,78	18,35	1,88	SMD_0589 xpsN	3,68	4,56	1,24	SMD_0171 cspR	5,41	5,17	0,96
SMD_0313 -	10,65	19,97	1,88	SMD_1529 -	4,92	6,10	1,24	SMD_0348 -	3,33	3,18	0,96
SMD_3802 -	6,43	12,06	1,87	SMD_4166 glyS	3,85	4,76	1,24	SMD_1251 -	3,49	3,33	0,96
SMD_1636 -	3,47	6,50	1,87	SMD_1635 -	3,81	4,72	1,24	SMD_1616 -	4,70	4,48	0,95
SMD_0630 -	4,61	8,64	1,87	SMD_1077 sufC	3,24	4,01	1,24	SMD_2887 -	3,71	3,54	0,95
SMD_3324 -	6,61	12,39	1,87	SMD_2594 -	6,98	8,65	1,24	SMD_0269 -	5,57	5,31	0,95
SMD_0148 smmK	5,87	10,99	1,87	SMD_2682 serC	4,84	5,99	1,24	SMD_2073 flis	3,32	3,17	0,95
SMD_0074 -	6,22	11,63	1,87	SMD_0301 -	4,04	5,00	1,24	SMD_4006 -	6,14	5,86	0,95
SMD_2604 -	2,80	5,23	1,87	SMD_1309 -	3,20	3,96	1,24	SMD_2326 -	8,72	8,32	0,95
SMD_0594 -	3,17	5,93	1,87	SMD_3236 -	3,51	4,35	1,24	SMD_1592 -	5,46	5,20	0,95
SMD_1184 -	4,06	7,58	1,87	SMD_3312 tolR	3,71	4,59	1,24	SMD_0380 -	6,29	5,98	0,95
SMD_3870 -	4,84	9,04	1,87	SMD_0384 -	4,55	5,63	1,24	SMD_2253 -	4,89	4,65	0,95
SMD_1641 -	4,13	7,71	1,87	SMD_2511 -	4,93	6,10	1,24	SMD_3575 -	4,48	4,26	0,95
SMD_0003 recF	4,40	8,20	1,86	SMD_3023 -	4,76	5,88	1,24	SMD_3153 gcwP	4,14	3,94	0,95
SMD_3512 thiC	5,67	10,57	1,86	SMD_0598 -	3,16	3,91	1,24	SMD_1447 fimU	5,59	5,31	0,95
SMD_0405 -	4,81	8,97	1,86	SMD_3517 ilvG	3,50	4,33	1,24	SMD_1313 -	5,71	5,43	0,95
SMD_3877 -	5,15	9,60	1,86	SMD_3704 atpB	5,56	6,87	1,24	SMD_0655 -	13,81	13,11	0,95
SMD_2688 -	4,23	7,87	1,86	SMD_4169 -	5,58	6,90	1,24	SMD_0090 -	5,80	5,51	0,95
SMD_1406 -	2,78	5,18	1,86	SMD_0077 -	4,12	5,09	1,24	SMD_1389 crt2	5,35	5,08	0,95
SMD_3790 -	5,21	9,69	1,86	SMD_2544 lctD	2,86	3,53	1,23	SMD_1213 cyoA	3,70	3,52	0,95
SMD_3098 -	2,01	3,74	1,86	SMD_0942 -	4,35	5,37	1,23	SMD_1101 -	3,59	3,41	0,95
SMD_2547 -	3,52	6,55	1,86	SMD_2998 -	3,19	3,94	1,23	SMD_2039 -	3,80	3,60	0,95
SMD_0603 -	4,53	8,42	1,86	SMD_1180 -	4,20	5,19	1,23	SMD_2413 gspG	4,44	4,21	0,95
SMD_1264 -	6,09	11,31	1,86	SMD_1986 efp2	3,20	3,95	1,23	SMD_0648 ftsZ	5,02	4,76	0,95
SMD_2442 C4.1	3,89	7,21	1,86	SMD_2636 virB11	3,63	4,48	1,23	SMD_0125 secB	3,71	3,51	0,95
SMD_3529 -	2,94	5,46	1,86	SMD_3603 -	5,54	6,84	1,23	SMD_3569 -	4,45	4,22	0,95
SMD_3301 -	6,15	11,41	1,85	SMD_2477 -	4,49	5,54	1,23	SMD_1572 -	4,54	4,30	0,95
SMD_3589 -	6,88	12,75	1,85	SMD_2809 -	4,34	5,36	1,23	SMD_0381 -	5,23	4,95	0,95
SMD_0023 -	6,03	11,17	1,85	SMD_2861 hmsH	17,39	21,44	1,23	SMD_1969 bmnA	3,42	3,24	0,95
SMD_3728 -	4,58	8,49	1,85	SMD_3879 -	4,62	5,69	1,23	SMD_2726 rplI	4,51	4,26	0,95
SMD_2896 phbB	4,25	7,87	1,85	SMD_0964 dnaX	4,10	5,05	1,23	SMD_0873 hupB	3,53	3,34	0,95
SMD_2572 -	6,58	12,17	1,85	SMD_0055 -	4,90	6,04	1,23	SMD_2260 -	9,12	8,63	0,95
SMD_0816 -	3,21	5,95	1,85	SMD_0084 -	3,63	4,47	1,23	SMD_2052 flir	4,52	4,28	0,95
SMD_0637 ftsL	4,32	7,99	1,85	SMD_3423 -	5,83	7,18	1,23	SMD_0883 -	6,09	5,76	0,95
SMD_3013 -	5,17	9,57	1,85	SMD_3014 -	4,73	5,82	1,23	SMD_3179 -	2,57	2,43	0,95
SMD_2690 hutI	7,84	14,49	1,85	SMD_3327 -	5,28	6,50	1,23	SMD_0706 ubiH	4,84	4,58	0,95
SMD_4060 -	4,82	8,92	1,85	SMD_0117 -	5,58	6,87	1,23	SMD_3027 -	4,67	4,42	0,95
SMD_0315 -	5,70	10,53	1,85	SMD_1724 -	3,74	4,60	1,23	SMD_2051 -	5,05	4,78	0,95
SMD_2255 -	11,22	20,73	1,85	SMD_1844 wblI	3,44	4,23	1,23	SMD_0990 -	3,95	3,73	0,95
SMD_3533 kdtA	4,81	8,88	1,85	SMD_3254 -	5,54	6,81	1,23	SMD_2493 -	9,29	8,78	0,94
SMD_1141 -	4,22	7,80	1,85	SMD_3080 metG	3,73	4,59	1,23	SMD_0035 -	8,80	8,31	0,94
SMD_1922 -	5,87	10,83	1,85	SMD_0596 -	5,20	6,39	1,23	SMD_2611 -	5,04	4,76	0,94
SMD_1244 -	3,96	7,31	1,85	SMD_3697 atpC	2,80	3,44	1,23	SMD_1324 rnhB	3,67	3,46	0,94
SMD_3545 -	4,15	7,65	1,85	SMD_3484 -	4,28	5,26	1,23	SMD_3499 -	6,44	6,07	0,94
SMD_1904 -	6,77	12,49	1,84	SMD_3858 -	3,96	4,86	1,23	SMD_3652 codA	4,87	4,60	0,94
SMD_1911 -	5,97	11,02	1,84	SMD_2088 flgB	3,57	4,38	1,23	SMD_2029 cheR	2,92	2,75	0,94
SMD_4015 fabG4	4,72	8,71	1,84	SMD_2866 proB	2,87	3,52	1,23	SMD_0763 -	9,55	9,00	0,94
SMD_0822 -	6,32	11,65	1,84	SMD_0609 -	4,12	5,06	1,23	SMD_1723 -	5,17	4,88	0,94
SMD_3046 tils	5,53	10,19	1,84	SMD_2006 -	5,66	6,94	1,23	SMD_2796 -	4,50	4,24	0,94
SMD_3274 M	5,90	10,86	1,84	SMD_1749 fdx	3,51	4,31	1,23	SMD_1593 -	6,33	5,97	0,94
SMD_0014 pdxJ	4,13	7,62	1,84	SMD_2490 betT	5,58	6,84	1,23	SMD_2595 mcpA	8,19	7,72	0,94
SMD_3964 -	6,62	12,19	1,84	SMD_4078 -	13,04	15,98	1,23	SMD_2164 -	2,21	2,08	0,94
SMD_3763 tRNA-Ile	2,92	5,37	1,84	SMD_1071 -	4,54	5,56	1,23	SMD_3666 -	5,12	4,82	0,94
SMD_3686 -	4,03	7,41	1,84	SMD_1936 -	2,77	3,39	1,22	SMD_0479 msrB	5,27	4,96	0,94
SMD_1639 -	4,89	8,99	1,84	SMD_0551 lpsJ	3,30	4,04	1,22	SMD_3933 -	3,21	3,01	0,94
SMD_3431 -	4,20	7,73	1,84	SMD_3167 hflC	3,85	4,71	1,22	SMD_2435 -	5,15	4,83	0,94
SMD_0955 -	3,43	6,31	1,84	SMD_0683 tesA	5,67	6,94	1,22	SMD_1865 -	3,39	3,18	0,94
SMD_0553 -	3,90	7,16	1,83	SMD_1190 uvrA	3,77	4,62	1,22	SMD_1070 -	3,58	3,36	0,94
SMD_2217 -	5,45	10,00	1,83	SMD_0216 RRM2	3,26	3,99	1,22	SMD_2915 -	5,88	5,51	0,94
SMD_0294 -	3,54	6,48	1,83	SMD_1802 -	4,16	5,08	1,22	SMD_2936 -	4,52	4,24	0,94
SMD_2302 -	4,98	9,13	1,83	SMD_3138 cstA	4,47	5,47	1,22	SMD_1561 -	5,24	4,91	0,94
SMD_1623 -	3,22	5,90	1,83	SMD_3454 -	5,85	7,16	1,22	SMD_0062 -	3,71	3,48	0,94
SMD_4084 mgfE2	8,27	15,15	1,83	SMD_3793 priA	5,53	6,77	1,22	SMD_0297 -	4,99	4,68	0,94
SMD_4080 -	7,09	12,97	1,83	SMD_3037 gor	4,14	5,07	1,22	SMD_2101 mnmA	3,76	3,52	0,94
SMD_2964 rimP	3,65	6,68	1,83	SMD_2470 -	2,77	3,39	1,22	SMD_0102 -	6,50	6,09	0,94
SMD_0486 -	4,20	7,67	1,83	SMD_3847 purH	4,35	5,32	1,22	SMD_0697 apaH	4,16	3,90	0,94
SMD_1312 -	3,13	5,72	1,83	SMD_2630 trwI	2,50	3,05	1,22	SMD_3318 ruvC	4,06	3,80	0,94
SMD_1917 -	4,87	8,91	1,83	SMD_0839 -	6,00	7,34	1,22	SMD_3676 -	3,85	3,61	0,94
SMD_0761 -	6,07	11,07	1,83	SMD_1526 -	4,02	4,91	1,22	SMD_0996 tcrA	4,49	4,20	0,94
SMD_0140 -	3,91	7,13	1,82	SMD_2641 virD4	4,75	5,81	1,22	SMD_3855 rhlB	4,94	4,62	0,94
SMD_1689 phoD	3,55	6,47	1,82	SMD_4237 yidC	4,18	5,11	1,22	SMD_1563 -	5,74	5,37	0,94
SMD_2625 -	2,72	4,95	1,82	SMD_3175 -	4,25	5,19	1,22	SMD_1838 cmk	3,96	3,70	0,94
SMD_1241 -	4,04	7,35	1,82	SMD_0812 -	4,76	5,82	1,22	SMD_1387 nth	2,26	2,11	0,93
SMD_2254 -	4,34	7,90	1,82	SMD_3397 cysK	5,86	7,16	1,22	SMD_2540 -	4,81	4,49	0,93
SMD_0039 -	4,72	8,59	1,82	SMD_3647 -	5,42	6,63	1,22	SMD_1191 rplU	3,70	3,45	0,93
SMD_1211 -	5,14	9,35	1,82	SMD_2890 -	4,91	6,00	1,22	SMD_1870 -	5,24	4,89	0,93
SMD_2448 -	4,54	8,25	1,82	SMD_0856 -	3,10	3,79	1,22	SMD_2072 -	3,75	3,50	0,93
SMD_1029 -	3,74	6,80	1,82	SMD_3088 -	4,52	5,52	1,22	SMD_2696 -	5,94	5,54	0,93
SMD_0876 tRNA-Asp	6,20	11,25	1,82	SMD_3680 -	4,21	5,14	1,22	SMD_3839 -	6,14	5,72	0,93
SMD_3907 trpE	7,00	12,70	1,82	SMD_1334 frr	3,45	4,21	1,22	SMD_1336 -	5,61	5,22	0,93
SMD_4065 -	3,92	7,10	1,81	SMD_3906 -	6,03	7,35	1,22	SMD_3880 -	4,15	3,86	0,93
SMD_2708 -	4,31	7,80	1,81	SMD_0445 -	5,39	6,57	1,22	SMD_2576 -	4,00	3,72	0,93
SMD_0621 -	7,14	12,93	1,81	SMD_3842 -	4,13	5,03	1,22	SMD_2463 entA	4,68	4,36	0,93
SMD_1381 pstB	3,46	6,26	1,81	SMD_1767 smeX	2,61	3,19	1,22	SMD_2705 -	3,95	3,67	0,93
SMD_1469 -	2,04	3,69	1,81	SMD_0887 -	3,50	4,27	1,22	SMD_0711 -	4,31	4,00	0,93
SMD_0928 trbL	4,36	7,88	1,81	SMD_0973 -	3,87	4,72	1,22	SMD_4043 -	4,88	4,54	0,93
SMD_2315 -	4,18	7,57	1,81	SMD_3768 ribA	4,59	5,60	1,22	SMD_1731 -	5,82	5,40	0,93
SMD_0388 -	3,92	7,09	1,81	SMD_2683 -	6,05	7,37	1,22	SMD_3081 -	4,61	4,28	0,93
SMD_2550 -	3,32	6,00	1,81	SMD_2136 lrpA2	1,68	2,04	1,22	SMD_1728 glk	4,24	3,94	0,93
SMD_0376 -	5,99	10,81	1,81	SMD_2037 cheY	3,52	4,29	1,22	SMD_3393 -	5,33	4,95	0,93
SMD_2666 -	5,06	9,13	1,80	SMD_1818 -	7,27	8,85	1,22	SMD_0608 -	4,21	3,91	0,93
SMD_3649 -	3,14	5,67	1,80	SMD_1006 -	4,23	5,14	1,22	SMD_3450 selA	6,37	5,91	0,93

SMD_1737 -	2,81	5,07	1,80	SMD_1532 -	4,01	4,87	1,22	SMD_4140 smmQ	4,35	4,03	0,93
SMD_3883 nudC	4,19	7,54	1,80	SMD_0738 -	2,46	3,00	1,22	SMD_4117 -	5,01	4,64	0,93
SMD_1722 ispG	3,51	6,32	1,80	SMD_0483 dadA	5,42	6,59	1,22	SMD_2112 trxB	4,33	4,01	0,93
SMD_1458 -	5,51	9,92	1,80	SMD_3253 hrpA	4,37	5,31	1,22	SMD_3196 -	7,72	7,14	0,93
SMD_3537 -	4,65	8,36	1,80	SMD_3191 hemE	4,90	5,96	1,22	SMD_2804 fpr	4,58	4,24	0,93
SMD_2581 -	2,39	4,29	1,80	SMD_0834 -	5,16	6,28	1,22	SMD_2806 -	4,32	3,99	0,92
SMD_0069 -	5,86	10,53	1,80	SMD_1885 -	3,62	4,40	1,22	SMD_0543 etfB	3,92	3,63	0,92
SMD_1094 -	4,89	8,78	1,80	SMD_3019 -	4,94	6,00	1,22	SMD_2358 -	3,02	2,79	0,92
SMD_3629 -	5,58	10,01	1,79	SMD_2679 -	4,16	5,05	1,22	SMD_1446 -	3,97	3,67	0,92
SMD_0036 -	4,56	8,18	1,79	SMD_3292 -	2,42	2,94	1,22	SMD_3003 asd	4,25	3,92	0,92
SMD_0424 -	8,18	14,67	1,79	SMD_0614 -	6,26	7,60	1,22	SMD_2050 fliH	4,19	3,87	0,92
SMD_1003 -	5,22	9,36	1,79	SMD_3008 psd	3,75	4,56	1,21	SMD_1080 -	6,23	5,75	0,92
SMD_3333 -	4,09	7,32	1,79	SMD_1061 -	3,74	4,55	1,21	SMD_4116 -	5,36	4,94	0,92
SMD_3844 -	3,99	7,15	1,79	SMD_0300 -	5,48	6,66	1,21	SMD_3239 pill	6,36	5,86	0,92
SMD_1916 -	4,82	8,62	1,79	SMD_0845 lpxH	5,90	7,16	1,21	SMD_2019 betB	5,22	4,81	0,92
SMD_0997 qnrR	2,44	4,36	1,79	SMD_0936 rnhA	4,47	5,43	1,21	SMD_1846 -	3,41	3,14	0,92
SMD_4173 tatE	5,33	9,53	1,79	SMD_2848 ccmG	3,29	3,99	1,21	SMD_0948 -	5,58	5,13	0,92
SMD_2614 -	4,74	8,48	1,79	SMD_0961 -	3,47	4,22	1,21	SMD_0191 -	5,89	5,41	0,92
SMD_1308 -	3,46	6,18	1,79	SMD_1853 -	3,78	4,58	1,21	SMD_3966 -	3,84	3,53	0,92
SMD_0672 -	4,10	7,33	1,79	SMD_3794 -	4,69	5,69	1,21	SMD_0070 ampC	6,74	6,19	0,92
SMD_1235 hslR	3,82	6,81	1,79	SMD_3989 -	7,80	9,46	1,21	SMD_0247 -	6,31	5,79	0,92
SMD_2695 -	7,29	13,01	1,79	SMD_3696 -	3,45	4,18	1,21	SMD_3663 xerC	4,13	3,78	0,92
SMD_2480 -	3,37	6,02	1,78	SMD_0059 rdgC	4,20	5,09	1,21	SMD_2316 -	4,51	4,14	0,92
SMD_3970 sndH	7,94	14,16	1,78	SMD_1852 -	4,00	4,85	1,21	SMD_1918 -	3,74	3,42	0,92
SMD_1209 -	4,86	8,67	1,78	SMD_4230 rlmI	4,53	5,48	1,21	SMD_3417 -	3,37	3,08	0,92
SMD_3860 -	6,21	11,07	1,78	SMD_2353 -	2,92	3,53	1,21	SMD_1651 pyrG	4,18	3,82	0,92
SMD_1799 tyrA	2,05	3,64	1,78	SMD_0986 pilZ	4,30	5,20	1,21	SMD_1357 -	6,89	6,31	0,92
SMD_3671 -	6,70	11,91	1,78	SMD_0149 cusA	5,97	7,23	1,21	SMD_1900 -	6,50	5,95	0,92
SMD_2674 -	4,01	7,14	1,78	SMD_2061 fliI	2,79	3,38	1,21	SMD_0786 rpiD	5,12	4,68	0,91
SMD_1702 -	3,64	6,46	1,78	SMD_0175 fabH	5,07	6,14	1,21	SMD_0440 -	7,80	7,13	0,91
SMD_0585 xpsJ	3,42	6,08	1,78	SMD_1976 serA	4,25	5,14	1,21	SMD_4045 -	5,80	5,30	0,91
SMD_1055 -	2,22	3,94	1,78	SMD_2610 mutX	4,34	5,24	1,21	SMD_1884 -	4,54	4,15	0,91
SMD_1059 -	2,69	4,77	1,78	SMD_0966 recR	4,07	4,92	1,21	SMD_2427 glgB	8,19	7,48	0,91
SMD_1301 -	6,72	11,91	1,77	SMD_0031 -	7,98	9,64	1,21	SMD_2888 efp	3,95	3,61	0,91
SMD_3978 cyoB2	5,90	10,47	1,77	SMD_0688 -	4,28	5,17	1,21	SMD_0054 pyrF	5,09	4,64	0,91
SMD_2027 cheB	2,76	4,90	1,77	SMD_2248 -	3,75	4,53	1,21	SMD_3315 ruvB	4,90	4,47	0,91
SMD_1948 hisC	2,53	4,48	1,77	SMD_3402 gph2	4,07	4,92	1,21	SMD_1009 -	5,35	4,88	0,91
SMD_3219 -	5,70	10,10	1,77	SMD_3372 rimK	5,55	6,70	1,21	SMD_2062 fliH	3,55	3,24	0,91
SMD_0463 -	4,13	7,31	1,77	SMD_2721 -	3,97	4,79	1,21	SMD_2675 acpD	7,22	6,58	0,91
SMD_0714 -	4,70	8,32	1,77	SMD_0867 -	5,27	6,37	1,21	SMD_3107 -	6,63	6,04	0,91
SMD_1443 -	4,58	8,10	1,77	SMD_1774 -	4,22	5,09	1,21	SMD_4118 -	5,97	5,44	0,91
SMD_1427 gsta	17,43	30,82	1,77	SMD_3900 crp	4,75	5,73	1,21	SMD_2338 -	3,97	3,61	0,91
SMD_1901 -	4,27	7,55	1,77	SMD_3252 -	4,17	5,03	1,21	SMD_0795 rpiN	5,13	4,67	0,91
SMD_2437 moaE	3,12	5,52	1,77	SMD_2810 -	3,68	4,43	1,21	SMD_1103 -	5,39	4,90	0,91
SMD_0352 -	3,71	6,56	1,77	SMD_2874 -	4,97	5,99	1,21	SMD_1019 tag	5,79	5,26	0,91
SMD_1534 -	3,27	5,77	1,76	SMD_3060 -	5,35	6,45	1,21	SMD_1542 -	5,92	5,37	0,91
SMD_0049 -	5,37	9,48	1,76	SMD_3633 -	4,69	5,65	1,20	SMD_1585 -	3,59	3,25	0,91
SMD_2153 -	3,05	5,37	1,76	SMD_1994 -	3,14	3,78	1,20	SMD_2691 hutH	5,52	5,00	0,91
SMD_3493 -	9,12	16,05	1,76	SMD_3223 -	3,93	4,74	1,20	SMD_2120 -	4,45	4,03	0,91
SMD_3823 -	6,72	11,81	1,76	SMD_3892 nudH	4,75	5,72	1,20	SMD_0319 radC	7,27	6,58	0,91
SMD_2907 -	4,69	8,25	1,76	SMD_3797 -	6,82	8,21	1,20	SMD_3809 -	7,94	7,19	0,91
SMD_0260 -	4,42	7,77	1,76	SMD_2194 -	4,46	5,37	1,20	SMD_0476 -	3,71	3,35	0,90
SMD_4115 -	4,18	7,34	1,76	SMD_1007 -	4,03	4,84	1,20	SMD_0118 -	6,71	6,07	0,90
SMD_1923 -	4,01	7,04	1,76	SMD_1355 bfr3	3,63	4,37	1,20	SMD_0573 xerD	7,85	7,09	0,90
SMD_3136 -	7,65	13,42	1,76	SMD_0642 tfsW	3,05	3,67	1,20	SMD_1608 -	3,91	3,53	0,90
SMD_3982 -	14,00	24,58	1,76	SMD_2944 tRNA-Pro	2,31	2,77	1,20	SMD_0656 -	7,91	7,14	0,90
SMD_0120 -	4,74	8,33	1,75	SMD_1449 pilW	4,72	5,67	1,20	SMD_1096 ispB	5,41	4,88	0,90
SMD_2209 -	3,23	5,67	1,75	SMD_3470 -	2,87	3,44	1,20	SMD_1360 emrA	4,12	3,72	0,90
SMD_1106 -	5,30	9,29	1,75	SMD_0529 wzm	3,09	3,71	1,20	SMD_0305 -	3,15	2,84	0,90
SMD_3691 -	4,50	7,89	1,75	SMD_3009 -	3,16	3,80	1,20	SMD_2390 -	5,79	5,21	0,90
SMD_3585 -	8,21	14,39	1,75	SMD_1068 piuC	2,66	3,19	1,20	SMD_1790 -	4,91	4,42	0,90
SMD_3769 -	3,75	6,58	1,75	SMD_3522 leuC	3,92	4,71	1,20	SMD_2865 proA	4,13	3,72	0,90
SMD_4024 smeS	5,83	10,22	1,75	SMD_2374 -	4,20	5,04	1,20	SMD_1091 murD	3,28	2,95	0,90
SMD_1517 -	4,13	7,23	1,75	SMD_3867 -	2,72	3,26	1,20	SMD_2450 -	6,11	5,49	0,90
SMD_3564 -	2,75	4,81	1,75	SMD_2271 -	4,35	5,21	1,20	SMD_2740 -	3,70	3,32	0,90
SMD_1179 purT	3,51	6,15	1,75	SMD_3813 groEL	5,32	6,37	1,20	SMD_2419 -	3,66	3,29	0,90
SMD_2820 -	3,39	5,93	1,75	SMD_0947 -	8,65	10,36	1,20	SMD_2720 poxA	4,91	4,41	0,90
SMD_2424 -	5,88	10,28	1,75	SMD_2671 -	3,98	4,76	1,20	SMD_1953 hisI	2,77	2,48	0,90
SMD_1491 copA	3,09	5,40	1,75	SMD_2717 gyrA	4,04	4,84	1,20	SMD_1817 rluA2	4,22	3,78	0,90
SMD_0462 -	4,65	8,13	1,75	SMD_0984 tmk	3,81	4,57	1,20	SMD_0905 -	9,81	8,80	0,90
SMD_3806 -	6,42	11,23	1,75	SMD_1983 smeZ	2,97	3,55	1,20	SMD_3490 pfk	5,83	5,23	0,90
SMD_3526 -	5,32	9,29	1,75	SMD_0093 -	6,11	7,31	1,20	SMD_3104 vdh	4,96	4,45	0,90
SMD_0012 cls	4,83	8,44	1,75	SMD_1913 -	2,89	3,45	1,20	SMD_3439 rpmE	4,07	3,65	0,90
SMD_2513 -	3,07	5,37	1,75	SMD_3147 -	3,56	4,26	1,20	SMD_0796 rplX	5,27	4,72	0,90
SMD_3969 exoD2	5,04	8,80	1,75	SMD_1095 -	4,95	5,92	1,20	SMD_3950 -	4,86	4,35	0,90
SMD_4129 cls2	6,60	11,52	1,74	SMD_3665 dapF	4,29	5,13	1,20	SMD_1886 -	5,73	5,13	0,90
SMD_1005 -	3,74	6,52	1,74	SMD_2475 -	4,75	5,68	1,20	SMD_1659 truD	3,45	3,09	0,90
SMD_1555 merA	4,62	8,05	1,74	SMD_4144 -	5,63	6,74	1,20	SMD_2803 -	5,96	5,33	0,89
SMD_2527 -	4,38	7,62	1,74	SMD_0546 rmlC	2,95	3,53	1,20	SMD_3188 aroK	7,42	6,64	0,89
SMD_4031 -	3,50	6,10	1,74	SMD_2188 -	2,66	3,18	1,20	SMD_3106 -	4,48	4,01	0,89
SMD_2085 flgE	3,96	6,89	1,74	SMD_3341 -	4,16	4,98	1,20	SMD_1736 -	4,67	4,18	0,89
SMD_4213 -	3,88	6,75	1,74	SMD_1352 asnB	5,14	6,15	1,20	SMD_0785 rplC	5,44	4,86	0,89
SMD_4234 glpQ	7,71	13,41	1,74	SMD_1791 recN	4,40	5,26	1,20	SMD_1775 -	6,84	6,12	0,89
SMD_1394 -	4,55	7,92	1,74	SMD_1117 -	4,98	5,95	1,20	SMD_3201 -	6,63	5,92	0,89
SMD_1493 -	3,60	6,26	1,74	SMD_1210 tRNA-Thr	1,79	2,14	1,19	SMD_0198 -	5,24	4,67	0,89
SMD_3738 -	5,85	10,18	1,74	SMD_3527 smeP	4,33	5,17	1,19	SMD_3791 -	6,47	5,77	0,89
SMD_0704 -	5,09	8,83	1,73	SMD_2621 -	4,10	4,90	1,19	SMD_0965 -	4,02	3,58	0,89
SMD_2652 -	5,22	9,06	1,73	SMD_0410 -	5,58	6,67	1,19	SMD_1373 -	4,62	4,12	0,89
SMD_3535 -	4,59	7,96	1,73	SMD_3069 -	7,41	8,84	1,19	SMD_2552 -	5,82	5,19	0,89
SMD_0366 -	5,04	8,74	1,73	SMD_0017 fbp	6,18	7,38	1,19	SMD_1464 -	5,45	4,84	0,89
SMD_2955 -	4,49	7,76	1,73	SMD_3514 -	5,64	6,73	1,19	SMD_3688 -	5,96	5,30	0,89
SMD_3941 kefA	5,93	10,25	1,73	SMD_3605 -	5,56	6,63	1,19	SMD_0668 metK	3,95	3,51	0,89
SMD_4011 -	3,33	5,76	1,73	SMD_1066 bfrA	7,57	9,03	1,19	SMD_0099 -	6,41	5,69	0,89
SMD_2263 -	2,41	4,16	1,73	SMD_0821 prpE	3,95	4,71	1,19	SMD_1359 -	5,06	4,49	0,89
SMD_2577 adi	3,81	6,58	1,73	SMD_0367 cyoE	4,22	5,03	1,19	SMD_2087 flgC	3,40	3,02	0,89

SMD_2591 -	3,62	6,24	1,72	SMD_2161 -	2,75	3,27	1,19	SMD_3392 smeM	4,84	4,29	0,89
SMD_1407 -	4,53	7,81	1,72	SMD_0094 -	5,41	6,45	1,19	SMD_1354 -	5,60	4,96	0,89
SMD_0611 ribD	4,71	8,12	1,72	SMD_3413 -	10,39	12,39	1,19	SMD_0137 -	20,41	18,09	0,89
SMD_3832 aroQ	3,84	6,62	1,72	SMD_1238 mutS	4,86	5,79	1,19	SMD_2169 -	3,54	3,14	0,89
SMD_0390 -	6,15	10,60	1,72	SMD_3477 astC	4,32	5,15	1,19	SMD_2749 acrD	3,28	2,91	0,89
SMD_3771 -	4,51	7,77	1,72	SMD_3552 -	6,88	8,21	1,19	SMD_0246 -	5,99	5,31	0,89
SMD_3673 -	5,40	9,30	1,72	SMD_1396 -	4,13	4,93	1,19	SMD_0985 holB	3,45	3,05	0,89
SMD_3090 yegD	5,22	8,98	1,72	SMD_3481 -	4,40	5,24	1,19	SMD_3160 -	4,92	4,34	0,88
SMD_3607 -	8,79	15,10	1,72	SMD_0547 rfbD	3,07	3,66	1,19	SMD_1942 fnr	5,95	5,25	0,88
SMD_2583 zntR	8,18	14,06	1,72	SMD_4193 -	6,26	7,46	1,19	SMD_2331 mgtA	3,82	3,37	0,88
SMD_2464 entF	2,93	5,04	1,72	SMD_0616 ribB	4,90	5,83	1,19	SMD_2987 -	3,89	3,43	0,88
SMD_3356 pilS	7,38	12,67	1,72	SMD_2067 -	3,88	4,62	1,19	SMD_3577 adhC	4,73	4,18	0,88
SMD_2276 -	7,62	13,05	1,71	SMD_3662 hslV	4,06	4,83	1,19	SMD_4226 -	5,65	4,98	0,88
SMD_2420 -	4,70	8,05	1,71	SMD_0719 ahpF	5,51	6,56	1,19	SMD_0791 rpsC	5,46	4,81	0,88
SMD_2170 -	3,97	6,80	1,71	SMD_2231 -	3,57	4,26	1,19	SMD_3996 tRNA-Arg	7,30	6,43	0,88
SMD_0050 -	6,08	10,41	1,71	SMD_4133 -	6,86	8,17	1,19	SMD_4089 -	3,38	2,97	0,88
SMD_0913 -	3,25	5,56	1,71	SMD_0700 pdxA	4,30	5,12	1,19	SMD_0288 -	4,82	4,25	0,88
SMD_3079 -	3,86	6,60	1,71	SMD_0636 mraW	4,66	5,54	1,19	SMD_2261 metE	7,39	6,50	0,88
SMD_0444 -	6,13	10,48	1,71	SMD_2898 -	3,74	4,45	1,19	SMD_2083 flgG	3,25	2,86	0,88
SMD_2304 -	3,49	5,96	1,71	SMD_1693 adhB	3,83	4,56	1,19	SMD_3800 Glycine.3	8,12	7,13	0,88
SMD_3532 -	4,97	8,48	1,71	SMD_3010 mltD	3,82	4,54	1,19	SMD_2855 cydA	3,95	3,47	0,88
SMD_0494 dinP	4,09	6,98	1,71	SMD_0833 kbl	4,09	4,86	1,19	SMD_2155 -	3,82	3,35	0,88
SMD_2650 -	3,59	6,12	1,71	SMD_1944 -	4,38	5,22	1,19	SMD_3876 -	5,47	4,81	0,88
SMD_1314 -	2,71	4,62	1,70	SMD_0419 -	2,02	2,41	1,19	SMD_4174 -	8,57	7,53	0,88
SMD_2175 -	7,47	12,73	1,70	SMD_3637 -	4,54	5,40	1,19	SMD_2960 truB	3,58	3,14	0,88
SMD_3604 cca	4,42	7,53	1,70	SMD_0563 -	5,82	6,92	1,19	SMD_2299 -	4,14	3,63	0,88
SMD_2038 -	2,02	3,45	1,70	SMD_3631 -	10,31	12,26	1,19	SMD_3595 -	4,24	3,72	0,88
SMD_0556 -	4,75	8,10	1,70	SMD_3360 pilC	4,39	5,22	1,19	SMD_2956 -	4,42	3,88	0,88
SMD_2211 -	3,16	5,37	1,70	SMD_3309 -	3,21	3,82	1,19	SMD_4105 -	5,20	4,55	0,88
SMD_0395 -	3,92	6,66	1,70	SMD_2394 -	2,46	2,93	1,19	SMD_1417 -	3,70	3,24	0,88
SMD_2284 -	9,26	15,72	1,70	SMD_2787 -	5,24	6,23	1,19	SMD_3909 -	4,59	4,02	0,88
SMD_0075 lhr	8,88	15,06	1,70	SMD_2663 -	3,87	4,61	1,19	SMD_2392 -	12,90	11,30	0,88
SMD_2807 cfa	4,43	7,51	1,70	SMD_1654 -	1,89	2,25	1,19	SMD_1476 smmD2	5,21	4,56	0,88
SMD_1677 lexA	6,19	10,49	1,70	SMD_4087 -	4,74	5,63	1,19	SMD_3613 -	3,96	3,47	0,88
SMD_2243 -	2,54	4,30	1,69	SMD_3714 -	4,06	4,82	1,19	SMD_4219 -	5,19	4,54	0,87
SMD_0420 -	3,33	5,65	1,69	SMD_0312 -	8,21	9,74	1,19	SMD_3586 -	3,70	3,24	0,87
SMD_3465 -	4,34	7,36	1,69	SMD_2244 -	4,99	5,92	1,19	SMD_2047 fleN	3,69	3,23	0,87
SMD_1753 -	5,15	8,72	1,69	SMD_2790 yjiV	5,12	6,07	1,19	SMD_3116 cspD	3,53	3,09	0,87
SMD_3362 coaE	4,21	7,12	1,69	SMD_4046 -	4,27	5,06	1,19	SMD_0794 rpsQ	5,26	4,61	0,87
SMD_2535 atzC2	4,75	8,04	1,69	SMD_2000 carB	3,17	3,76	1,19	SMD_1816 -	4,66	4,07	0,87
SMD_1686 -	2,96	5,01	1,69	SMD_3625 -	4,10	4,86	1,19	SMD_4095 -	3,80	3,32	0,87
SMD_3667 -	3,31	5,60	1,69	SMD_1666 -	3,20	3,79	1,19	SMD_1083 -	5,61	4,90	0,87
SMD_3621 -	5,42	9,18	1,69	SMD_1734 sdhA	3,33	3,95	1,19	SMD_1362 tRNA-Leu	2,79	2,44	0,87
SMD_1990 -	2,13	3,61	1,69	SMD_2086 flgD	3,84	4,56	1,19	SMD_0101 -	4,31	3,76	0,87
SMD_2842 ccmA	4,52	7,64	1,69	SMD_1471 uvrC	2,84	3,37	1,19	SMD_2079 flgL	3,35	2,92	0,87
SMD_0028 -	5,14	8,69	1,69	SMD_1784 -	6,28	7,45	1,19	SMD_4225 -	6,55	5,70	0,87
SMD_3767 htrB2	4,65	7,85	1,69	SMD_1739 -	4,12	4,88	1,19	SMD_1981 -	4,59	3,99	0,87
SMD_0600 -	7,12	12,02	1,69	SMD_0235 -	4,82	5,71	1,18	SMD_3029 -	5,40	4,70	0,87
SMD_4002 -	4,26	7,19	1,69	SMD_3482 -	3,79	4,49	1,18	SMD_0793 rpmC	5,23	4,55	0,87
SMD_0063 gltD	3,26	5,51	1,69	SMD_1073 -	4,36	5,17	1,18	SMD_1058 -	7,73	6,72	0,87
SMD_3591 engB	4,05	6,83	1,69	SMD_1955 -	6,33	7,49	1,18	SMD_3073 -	5,24	4,55	0,87
SMD_0974 -	4,09	6,90	1,69	SMD_2094 -	3,21	3,80	1,18	SMD_0830 -	8,57	7,45	0,87
SMD_2556 -	4,90	8,26	1,69	SMD_4164 -	3,31	3,92	1,18	SMD_0349 -	3,59	3,12	0,87
SMD_3047 xseB	4,54	7,64	1,68	SMD_3366 -	4,40	5,20	1,18	SMD_0790 rpiV	5,51	4,79	0,87
SMD_1431 petB	4,61	7,77	1,68	SMD_0824 gst	4,51	5,34	1,18	SMD_0195 lepB2	7,21	6,26	0,87
SMD_0076 -	3,78	6,36	1,68	SMD_0618 nusB	4,65	5,50	1,18	SMD_0797 rpiE	5,36	4,65	0,87
SMD_2517 -	5,10	8,59	1,68	SMD_1271 mfd	3,88	4,59	1,18	SMD_0650 -	5,26	4,56	0,87
SMD_0430 -	3,96	6,67	1,68	SMD_0103 glnA	5,74	6,78	1,18	SMD_1644 -	4,00	3,47	0,87
SMD_3272 O	5,42	9,11	1,68	SMD_2156 -	4,54	5,37	1,18	SMD_1280 zur	4,45	3,85	0,87
SMD_0382 -	4,04	6,79	1,68	SMD_0067 -	4,54	5,37	1,18	SMD_3764 -	8,99	7,78	0,87
SMD_2471 -	3,60	6,06	1,68	SMD_0341 5SrRNA	4,54	5,37	1,18	SMD_1232 -	6,70	5,79	0,86
SMD_0058 -	3,82	6,42	1,68	SMD_1522 -	4,54	5,37	1,18	SMD_0523 -	6,69	5,77	0,86
SMD_3190 -	4,52	7,60	1,68	SMD_1549 -	4,54	5,37	1,18	SMD_3414 -	10,35	8,91	0,86
SMD_3944 -	6,44	10,81	1,68	SMD_1611 -	4,54	5,37	1,18	SMD_0232 -	3,87	3,33	0,86
SMD_0307 -	6,26	10,50	1,68	SMD_1612 -	4,54	5,37	1,18	SMD_0234 ohr	6,02	5,17	0,86
SMD_1606 B	3,20	5,37	1,68	SMD_4178 5SrRNA	4,54	5,37	1,18	SMD_0792 rpiP	5,41	4,64	0,86
SMD_3836 -	3,26	5,46	1,68	SMD_4183 5SrRNA	4,54	5,37	1,18	SMD_0513 -	5,27	4,52	0,86
SMD_1303 -	11,02	18,47	1,68	SMD_2869 argC	3,23	3,82	1,18	SMD_0041 fpg	5,96	5,11	0,86
SMD_3994 -	6,20	10,40	1,68	SMD_0766 -	4,76	5,61	1,18	SMD_1903 -	6,86	5,88	0,86
SMD_3055 maf	4,27	7,16	1,68	SMD_1973 -	2,78	3,29	1,18	SMD_1631 tRNA-Leu	4,30	3,69	0,86
SMD_0631 -	4,39	7,35	1,68	SMD_0813 aroH	5,26	6,21	1,18	SMD_3061 rlmH	5,33	4,57	0,86
SMD_1786 -	4,85	8,13	1,68	SMD_3991 -	6,81	8,04	1,18	SMD_2870 -	4,09	3,51	0,86
SMD_2664 -	3,60	6,01	1,67	SMD_1441 -	3,82	4,51	1,18	SMD_2972 nuol	2,98	2,56	0,86
SMD_3528 smeO	10,05	16,81	1,67	SMD_0180 ddlA	6,67	7,87	1,18	SMD_3320 -	4,82	4,13	0,86
SMD_2064 fltF	2,09	3,50	1,67	SMD_0053 hel	4,00	4,71	1,18	SMD_0178 -	5,68	4,87	0,86
SMD_0629 -	4,14	6,92	1,67	SMD_3161 -	4,65	5,48	1,18	SMD_3916 phaD	4,70	4,02	0,86
SMD_2268 -	3,39	5,65	1,67	SMD_1963 -	3,85	4,54	1,18	SMD_0446 -	9,59	8,21	0,86
SMD_4004 agaR	3,74	6,24	1,67	SMD_3250 -	4,15	4,89	1,18	SMD_1581 tRNA-Gly	6,27	5,37	0,86
SMD_4016 -	4,36	7,28	1,67	SMD_1203 -	3,69	4,35	1,18	SMD_0969 -	4,98	4,26	0,86
SMD_0038 -	5,85	9,75	1,67	SMD_3539 -	3,68	4,34	1,18	SMD_2777 -	2,51	2,15	0,86
SMD_2651 -	4,74	7,89	1,67	SMD_2354 -	2,95	3,47	1,18	SMD_0784 rpsJ	5,48	4,68	0,86
SMD_1507 -	5,19	8,64	1,67	SMD_0593 pncB	5,54	6,53	1,18	SMD_0787 rpiW	5,49	4,70	0,85
SMD_1053 -	2,71	4,52	1,66	SMD_1259 qseC	4,46	5,25	1,18	SMD_0455 -	4,27	3,65	0,85
SMD_1650 -	7,08	11,79	1,66	SMD_2996 -	3,55	4,18	1,18	SMD_2828 -	4,52	3,86	0,85
SMD_2368 -	5,96	9,92	1,66	SMD_2115 lolA	3,32	3,91	1,18	SMD_1866 -	3,41	2,91	0,85
SMD_4188 -	5,53	9,20	1,66	SMD_1719 pgi	3,71	4,37	1,18	SMD_0950 -	7,47	6,39	0,85
SMD_2307 -	6,38	10,60	1,66	SMD_1661 surE	4,56	5,36	1,18	SMD_1679 recX	4,52	3,87	0,85
SMD_2063 fltG	1,82	3,03	1,66	SMD_0613 -	4,50	5,30	1,18	SMD_3339 -	6,20	5,27	0,85
SMD_2782 -	5,98	9,93	1,66	SMD_0925 trbE	5,97	7,02	1,18	SMD_2984 -	4,44	3,77	0,85
SMD_1477 -	4,99	8,29	1,66	SMD_1294 -	4,54	5,35	1,18	SMD_2328 -	4,38	3,72	0,85
SMD_2711 -	2,68	4,45	1,66	SMD_0097 -	5,44	6,40	1,18	SMD_1368 -	3,10	2,63	0,85
SMD_1170 -	2,96	4,91	1,66	SMD_1979 -	3,66	4,30	1,18	SMD_0788 rpiB	5,47	4,64	0,85
SMD_2569 -	6,95	11,53	1,66	SMD_3323 aspS	4,40	5,18	1,18	SMD_0387 -	4,93	4,17	0,84
SMD_2359 -	3,72	6,17	1,66	SMD_1992 feoB	3,56	4,18	1,18	SMD_1541 -	12,93	10,92	0,84
SMD_3267 -	11,43	18,97	1,66	SMD_0757 pth	3,44	4,04	1,18	SMD_2510 -	16,84	14,21	0,84

SMD_3426 pilO	3,88	6,44	1,66	SMD_0007 -	4,50	5,29	1,18	SMD_0328 kdpA	6,20	5,24	0,84
SMD_2379 -	4,77	7,90	1,66	SMD_0343 tRNA-Ala	7,71	9,05	1,18	SMD_2741 -	4,72	3,97	0,84
SMD_0108 mltA	6,23	10,31	1,66	SMD_0333 -	5,28	6,21	1,17	SMD_3888 -	6,09	5,12	0,84
SMD_3817 -	3,95	6,53	1,65	SMD_2756 -	3,59	4,22	1,17	SMD_4044 hemB	4,13	3,47	0,84
SMD_3874 smeJ	4,06	6,71	1,65	SMD_3885 -	3,83	4,50	1,17	SMD_1403 -	4,63	3,89	0,84
SMD_1371 macB	4,99	8,25	1,65	SMD_3920 yrbG	4,67	5,48	1,17	SMD_2643 -	23,26	19,56	0,84
SMD_2639 -	3,80	6,29	1,65	SMD_0850 ppk	4,62	5,42	1,17	SMD_1928 -	3,71	3,12	0,84
SMD_0511 rstA	4,43	7,33	1,65	SMD_1304 -	3,93	4,61	1,17	SMD_2055 flhO	4,71	3,96	0,84
SMD_0006 -	4,57	7,55	1,65	SMD_4158 -	3,91	4,59	1,17	SMD_2344 -	6,32	5,30	0,84
SMD_1047 -	4,62	7,64	1,65	SMD_0459 -	3,90	4,58	1,17	SMD_0932 -	5,51	4,62	0,84
SMD_0773 nusG	4,05	6,68	1,65	SMD_3420 batA	3,88	4,54	1,17	SMD_1971 mtuD	5,04	4,22	0,84
SMD_2718 mtnA	4,10	6,76	1,65	SMD_3225 gcvT	3,72	4,36	1,17	SMD_3021 -	10,69	8,95	0,84
SMD_2965 tRNA-fMet	2,64	4,36	1,65	SMD_2044 cheZ	2,61	3,06	1,17	SMD_0801 rpiR	4,20	3,52	0,84
SMD_2834 scpA	5,18	8,55	1,65	SMD_1565 cadA	3,15	3,69	1,17	SMD_1062 apbE	3,91	3,28	0,84
SMD_1380 phoU	9,70	15,99	1,65	SMD_0832 -	3,09	3,62	1,17	SMD_2090 flgA	2,77	2,32	0,84
SMD_2434 fnr2	2,65	4,36	1,65	SMD_3650 -	3,70	4,34	1,17	SMD_4041 aroE	5,75	4,81	0,84
SMD_2891 -	5,06	8,34	1,65	SMD_0859 -	6,19	7,25	1,17	SMD_3018 -	5,93	4,95	0,84
SMD_0385 -	4,46	7,34	1,65	SMD_0456 -	3,04	3,56	1,17	SMD_1032 -	5,12	4,27	0,83
SMD_0729 exo	3,95	6,50	1,65	SMD_0229 -	4,58	5,36	1,17	SMD_1954 -	4,83	4,02	0,83
SMD_1193 obg	2,99	4,92	1,65	SMD_2007 lytT	4,67	5,47	1,17	SMD_2659 macA	4,80	4,01	0,83
SMD_1625 -	1,82	2,99	1,65	SMD_2905 ex7L	4,24	4,96	1,17	SMD_0473 -	5,77	4,81	0,83
SMD_1721 -	5,25	8,63	1,64	SMD_3410 -	5,25	6,14	1,17	SMD_3921 -	12,02	10,01	0,83
SMD_2863 hmsR	3,78	6,21	1,64	SMD_0641 mraY	2,83	3,31	1,17	SMD_1242 -	6,14	5,11	0,83
SMD_2081 flgl	2,63	4,32	1,64	SMD_1207 -	7,86	9,20	1,17	SMD_2802 -	3,03	2,52	0,83
SMD_0263 -	6,25	10,27	1,64	SMD_3922 -	3,19	3,73	1,17	SMD_3523 leuD	2,64	2,19	0,83
SMD_0259 dusA	4,83	7,94	1,64	SMD_2166 -	7,92	9,27	1,17	SMD_1620 -	6,51	5,42	0,83
SMD_1568 -	4,76	7,82	1,64	SMD_4201 -	3,70	4,33	1,17	SMD_0396 -	6,43	5,35	0,83
SMD_0745 -	4,19	6,87	1,64	SMD_2732 -	4,31	5,04	1,17	SMD_2355 -	3,64	3,03	0,83
SMD_1128 -	4,52	7,42	1,64	SMD_1801 -	4,31	5,04	1,17	SMD_3968 -	6,16	5,12	0,83
SMD_0239 -	5,24	8,58	1,64	SMD_3248 mrcB	4,39	5,13	1,17	SMD_3026 -	5,28	4,38	0,83
SMD_3939 -	5,30	8,68	1,64	SMD_1747 coaD	4,35	5,08	1,17	SMD_3741 -	7,85	6,51	0,83
SMD_2795 -	6,67	10,92	1,64	SMD_0666 ppc	4,51	5,28	1,17	SMD_2536 -	10,52	8,71	0,83
SMD_3487 -	3,39	5,54	1,64	SMD_3786 -	5,44	6,36	1,17	SMD_3658 smeD	4,99	4,13	0,83
SMD_0750 hemA	5,71	9,34	1,64	SMD_1326 lpxA	3,33	3,89	1,17	SMD_0525 -	5,34	4,41	0,83
SMD_4012 bioB	4,17	6,83	1,64	SMD_4036 -	4,79	5,60	1,17	SMD_3845 -	6,08	5,02	0,83
SMD_1961 cueR	2,01	3,29	1,64	SMD_0874 tRNA-Val	3,52	4,12	1,17	SMD_1277 -	8,39	6,93	0,83
SMD_2278 -	5,22	8,54	1,64	SMD_2980 nuoA	5,15	6,02	1,17	SMD_0884 -	4,68	3,86	0,82
SMD_4066 -	5,29	8,66	1,64	SMD_1663 -	3,49	4,08	1,17	SMD_3076 -	5,52	4,55	0,82
SMD_1171 -	3,91	6,39	1,64	SMD_3083 -	4,31	5,04	1,17	SMD_0789 rpsS	5,72	4,71	0,82
SMD_1934 -	3,30	5,40	1,64	SMD_0354 pnuC2	5,13	5,99	1,17	SMD_1970 masA	4,45	3,66	0,82
SMD_1780 -	4,16	6,80	1,63	SMD_0350 -	5,80	6,78	1,17	SMD_2844 ccmC	5,52	4,54	0,82
SMD_3169 -	4,91	8,03	1,63	SMD_0755 prs	5,35	6,25	1,17	SMD_2913 -	7,34	6,04	0,82
SMD_2755 -	2,82	4,61	1,63	SMD_2460 -	4,41	5,15	1,17	SMD_1626 -	6,03	4,95	0,82
SMD_1233 -	5,87	9,59	1,63	SMD_3765 rpoD	4,07	4,76	1,17	SMD_0962 -	5,23	4,30	0,82
SMD_2729 -	5,18	8,45	1,63	SMD_2823 rnE	3,74	4,37	1,17	SMD_4038 ilvD	5,15	4,23	0,82
SMD_0029 phhA	5,09	8,30	1,63	SMD_0018 aspC	4,45	5,20	1,17	SMD_1286 -	3,22	2,65	0,82
SMD_1627 -	4,90	7,99	1,63	SMD_2531 -	4,41	5,15	1,17	SMD_2266 -	7,69	6,30	0,82
SMD_1393 ampDI	5,42	8,84	1,63	SMD_0960 -	2,85	3,33	1,17	SMD_0798 rpsN	5,96	4,88	0,82
SMD_1178 -	6,08	9,91	1,63	SMD_1412 potG	3,37	3,93	1,17	SMD_0243 -	5,92	4,86	0,82
SMD_1995 -	3,12	5,09	1,63	SMD_1015 -	4,63	5,40	1,17	SMD_2151 -	4,54	3,72	0,82
SMD_2414 -	3,29	5,37	1,63	SMD_4101 -	4,18	4,88	1,17	SMD_3154 -	4,78	3,92	0,82
SMD_2132 cusB	3,88	6,32	1,63	SMD_4017 -	4,80	5,60	1,17	SMD_3927 -	3,77	3,08	0,82
SMD_3263 iroE2	7,73	12,59	1,63	SMD_3773 -	4,90	5,72	1,17	SMD_0552 -	3,94	3,22	0,82
SMD_3428 pilM	5,12	8,33	1,63	SMD_2237 -	4,22	4,92	1,17	SMD_0567 -	4,35	3,54	0,81
SMD_3042 -	5,80	9,44	1,63	SMD_0016 -	4,66	5,43	1,17	SMD_0306 -	4,04	3,29	0,81
SMD_3034 -	4,86	7,90	1,63	SMD_3951 speA	4,17	4,86	1,17	SMD_2335 -	7,75	6,30	0,81
SMD_3368 -	5,69	9,25	1,62	SMD_0643 murG	3,13	3,65	1,17	SMD_4104 acpP2	3,88	3,15	0,81
SMD_2555 -	3,17	5,15	1,62	SMD_2833 yciL	3,20	3,73	1,17	SMD_3957 glnB3	5,26	4,28	0,81
SMD_2923 -	4,22	6,85	1,62	SMD_3547 -	4,75	5,54	1,17	SMD_2616 -	6,59	5,36	0,81
SMD_2177 -	4,45	7,22	1,62	SMD_3418 -	3,96	4,61	1,17	SMD_0861 -	5,24	4,26	0,81
SMD_3811 -	5,69	9,23	1,62	SMD_1575 -	3,47	4,04	1,17	SMD_3677 -	3,91	3,17	0,81
SMD_1935 -	4,63	7,51	1,62	SMD_1745 htpG	3,66	4,26	1,17	SMD_1420 -	4,64	3,77	0,81
SMD_3628 -	5,87	9,52	1,62	SMD_1325 lpxB	3,59	4,18	1,16	SMD_3717 -	5,35	4,34	0,81
SMD_3033 -	4,65	7,52	1,62	SMD_3873 smeI	5,96	6,94	1,16	SMD_1342 -	9,87	8,01	0,81
SMD_1685 aceE	4,98	8,06	1,62	SMD_4141 -	5,12	5,96	1,16	SMD_0470 -	6,74	5,47	0,81
SMD_0015 -	10,41	16,84	1,62	SMD_3066 leuS	4,34	5,05	1,16	SMD_2297 -	6,24	5,06	0,81
SMD_0998 smqnr	4,40	7,12	1,62	SMD_4236 -	4,84	5,64	1,16	SMD_2049 flhA	3,46	2,81	0,81
SMD_0136 -	4,20	6,80	1,62	SMD_3064 holA	4,56	5,31	1,16	SMD_2479 -	3,88	3,15	0,81
SMD_1619 -	3,38	5,46	1,62	SMD_1332 cdsA	3,61	4,21	1,16	SMD_1558 merR	5,18	4,19	0,81
SMD_0952 -	4,83	7,81	1,62	SMD_2681 pheA	3,98	4,63	1,16	SMD_1837 rpmJ2	4,05	3,28	0,81
SMD_0466 -	7,50	12,11	1,61	SMD_2989 accD	3,66	4,26	1,16	SMD_2238 xylE	4,31	3,48	0,81
SMD_1139 -	3,65	5,90	1,61	SMD_3718 hemC	7,51	8,73	1,16	SMD_3195 -	12,11	9,79	0,81
SMD_0695 folA	4,18	6,74	1,61	SMD_0885 -	3,24	3,77	1,16	SMD_0811 dsbB	5,31	4,28	0,81
SMD_2601 -	3,18	5,14	1,61	SMD_0147 smmJ	8,79	10,21	1,16	SMD_4223 -	16,33	13,15	0,81
SMD_2895 -	6,38	10,29	1,61	SMD_2765 -	3,57	4,14	1,16	SMD_2886 ubiG	3,67	2,95	0,80
SMD_1530 -	3,87	6,24	1,61	SMD_3340 poxB	5,33	6,19	1,16	SMD_2220 -	3,28	2,64	0,80
SMD_0272 -	8,87	14,30	1,61	SMD_3993 -	9,53	11,06	1,16	SMD_3910 rpe	3,71	2,98	0,80
SMD_0296 katA	5,35	8,61	1,61	SMD_0215 RRM1	4,37	5,07	1,16	SMD_0025 -	5,01	4,02	0,80
SMD_2239 xylA	2,68	4,31	1,61	SMD_3385 -	4,52	5,24	1,16	SMD_4032 -	3,68	2,95	0,80
SMD_2707 -	7,98	12,82	1,61	SMD_0085 -	3,59	4,16	1,16	SMD_2455 -	4,47	3,57	0,80
SMD_0377 folB	3,89	6,25	1,61	SMD_3758 -	5,14	5,97	1,16	SMD_0663 -	6,26	4,99	0,80
SMD_2496 -	4,12	6,61	1,60	SMD_3895 rpsI	3,63	4,21	1,16	SMD_2327 -	19,29	15,38	0,80
SMD_0439 -	6,41	10,29	1,60	SMD_1965 -	3,18	3,69	1,16	SMD_2425 malQ	5,02	4,00	0,80
SMD_1115 -	2,93	4,70	1,60	SMD_1323 dnaE	3,62	4,20	1,16	SMD_0274 C4.11	20,80	16,48	0,79
SMD_0676 -	3,96	6,35	1,60	SMD_2881 yidD	9,27	10,76	1,16	SMD_0940 -	4,47	3,54	0,79
SMD_4206 -	5,22	8,36	1,60	SMD_3143 -	5,56	6,45	1,16	SMD_1122 -	6,71	5,30	0,79
SMD_2445 -	6,37	10,21	1,60	SMD_2979 nuoB	4,14	4,81	1,16	SMD_4023 smeA	10,71	8,46	0,79
SMD_1785 smpB	3,90	6,25	1,60	SMD_0534 -	3,08	3,57	1,16	SMD_0022 ku	10,62	8,38	0,79
SMD_3739 -	3,79	6,07	1,60	SMD_2319 -	10,36	12,01	1,16	SMD_1951 hisA	3,54	2,79	0,79
SMD_3041 -	5,59	8,95	1,60	SMD_3472 rubA	4,51	5,23	1,16	SMD_3496 -	6,81	5,37	0,79
SMD_0334 -	3,98	6,37	1,60	SMD_0190 yaeJ	4,81	5,58	1,16	SMD_0281 -	6,02	4,75	0,79
SMD_3074 -	4,60	7,36	1,60	SMD_1090 -	3,07	3,56	1,16	SMD_2035 -	5,42	4,27	0,79
SMD_1497 -	2,56	4,09	1,60	SMD_1814 -	3,97	4,60	1,16	SMD_1398 -	8,05	6,34	0,79
SMD_3674 -	5,30	8,47	1,60	SMD_2545 lctR	3,53	4,09	1,16	SMD_3777 def	5,48	4,32	0,79
SMD_1267 nfi	5,75	9,19	1,60	SMD_3072 -	5,36	6,20	1,16	SMD_3566 -	5,15	4,05	0,79

SMD_3949 -	3,56	5,69	1,60	SMD_4215 -	3,98	4,61	1,16	SMD_2492 mdtd	6,27	4,94	0,79
SMD_3824 -	4,65	7,43	1,60	SMD_1678 recA	4,10	4,75	1,16	SMD_3182 prpB	3,72	2,93	0,79
SMD_3684 -	3,72	5,94	1,60	SMD_1655 eno	3,94	4,56	1,16	SMD_0415 -	6,85	5,37	0,78
SMD_1706 -	3,05	4,86	1,60	SMD_1833 -	4,09	4,73	1,16	SMD_4109 cloA	8,16	6,39	0,78
SMD_3113 -	4,83	7,71	1,60	SMD_1652 kdsA	4,00	4,63	1,16	SMD_1997 -	8,36	6,53	0,78
SMD_3451 selB	4,34	6,92	1,59	SMD_0255 -	4,27	4,93	1,16	SMD_3067 -	7,59	5,91	0,78
SMD_2467 entE	2,87	4,57	1,59	SMD_3383 -	4,83	5,59	1,16	SMD_3342 -	4,35	3,38	0,78
SMD_3052 tldD	3,82	6,08	1,59	SMD_0531 -	3,38	3,91	1,16	SMD_0240 -	7,82	6,06	0,78
SMD_2518 -	7,29	11,60	1,59	SMD_2994 -	3,63	4,19	1,16	SMD_1341 -	6,48	5,03	0,78
SMD_3590 -	4,94	7,85	1,59	SMD_2541 -	3,99	4,61	1,16	SMD_1879 -	9,06	7,02	0,77
SMD_0496 -	4,22	6,71	1,59	SMD_2988 glmM	3,72	4,29	1,16	SMD_1087 phzF	5,24	4,06	0,77
SMD_2466 entB	2,05	3,26	1,59	SMD_2557 -	5,78	6,68	1,16	SMD_3024 -	2,86	2,22	0,77
SMD_3270 Q	4,35	6,92	1,59	SMD_1432 petC	4,39	5,07	1,16	SMD_3521 tam	6,75	5,22	0,77
SMD_3788 -	5,69	9,05	1,59	SMD_3164 purA	5,16	5,96	1,16	SMD_3115 -	5,66	4,37	0,77
SMD_4027 -	4,11	6,52	1,59	SMD_3524 leuB	3,31	3,83	1,16	SMD_1140 -	6,95	5,37	0,77
SMD_3221 fabG2	5,66	8,99	1,59	SMD_3646 mreB	4,91	5,67	1,15	SMD_3036 -	7,27	5,61	0,77
SMD_3816 cutA	8,47	13,44	1,59	SMD_0710 -	3,88	4,48	1,15	SMD_1947 hisD	4,48	3,46	0,77
SMD_1803 -	6,90	10,95	1,59	SMD_2221 -	2,59	2,99	1,15	SMD_2436 mobA	6,81	5,26	0,77
SMD_3705 -	7,34	11,65	1,59	SMD_3848 purD	5,31	6,13	1,15	SMD_0481 -	11,76	9,06	0,77
SMD_4229 -	4,23	6,72	1,59	SMD_3801 Glycine.2	6,24	7,20	1,15	SMD_2213 -	6,97	5,37	0,77
SMD_1318 phaZ	5,51	8,74	1,59	SMD_0946 sugE	3,83	4,41	1,15	SMD_3186 -	8,27	6,34	0,77
SMD_0100 ssuE2	3,72	5,90	1,59	SMD_0769 tRNA-Thr	6,71	7,74	1,15	SMD_1240 -	6,06	4,65	0,77
SMD_2723 -	4,28	6,78	1,58	SMD_0280 trpS	4,77	5,51	1,15	SMD_1097 aglA	7,86	6,02	0,77
SMD_3784 -	4,71	7,46	1,58	SMD_1069 -	3,32	3,83	1,15	SMD_1404 -	5,00	3,81	0,76
SMD_2767 -	3,03	4,79	1,58	SMD_2811 -	4,23	4,88	1,15	SMD_3936 -	8,70	6,63	0,76
SMD_1891 -	3,90	6,17	1,58	SMD_4131 rpmG	5,86	6,76	1,15	SMD_1434 sspB	4,87	3,71	0,76
SMD_0504 -	4,79	7,57	1,58	SMD_3930 pdhA	3,48	4,01	1,15	SMD_2269 -	5,60	4,24	0,76
SMD_0142 smmP2	7,63	12,06	1,58	SMD_2739 sbcB	3,48	4,01	1,15	SMD_2798 gsd4	6,63	5,02	0,76
SMD_2620 -	4,92	7,77	1,58	SMD_3814 groES	5,62	6,47	1,15	SMD_2246 -	6,06	4,58	0,75
SMD_3587 -	4,39	6,94	1,58	SMD_3787 panE	4,73	5,45	1,15	SMD_1405 -	5,32	4,01	0,75
SMD_1708 -	4,32	6,81	1,58	SMD_3884 -	6,43	7,41	1,15	SMD_3266 -	11,82	8,91	0,75
SMD_4069 tatD	4,34	6,84	1,58	SMD_0893 -	2,20	2,53	1,15	SMD_3593 dsbA	5,39	4,06	0,75
SMD_3162 -	3,99	6,29	1,58	SMD_3044 phoA	3,48	4,01	1,15	SMD_1564 -	7,13	5,37	0,75
SMD_2700 -	5,08	8,00	1,58	SMD_1778 -	4,81	5,54	1,15	SMD_2917 tRNA-Phe	7,13	5,37	0,75
SMD_0903 -	4,42	6,95	1,58	SMD_2637 -	3,48	4,01	1,15	SMD_2571 fecR2	11,26	8,47	0,75
SMD_0679 huvA	3,84	6,04	1,58	SMD_2737 -	3,99	4,60	1,15	SMD_2372 smmC	4,54	3,41	0,75
SMD_0939 tRNA-Ser	3,53	5,56	1,57	SMD_2114 -	3,13	3,61	1,15	SMD_3606 -	6,14	4,62	0,75
SMD_3639 rlpA	5,11	8,04	1,57	SMD_2854 cydD	4,85	5,58	1,15	SMD_2499 -	3,87	2,91	0,75
SMD_2824 -	2,91	4,58	1,57	SMD_3446 fdnG	8,98	10,34	1,15	SMD_0406 -	6,23	4,68	0,75
SMD_3091 -	5,46	8,58	1,57	SMD_2853 cydC	3,25	3,74	1,15	SMD_2178 tRNA-Pseudo	3,72	2,79	0,75
SMD_3965 comM	5,74	9,02	1,57	SMD_1110 -	6,19	7,12	1,15	SMD_3576 -	5,25	3,94	0,75
SMD_2818 -	5,47	8,60	1,57	SMD_0548 manA	3,17	3,65	1,15	SMD_4208 -	5,33	4,00	0,75
SMD_3821 rhoA	8,64	13,58	1,57	SMD_1335 pyrH	3,76	4,33	1,15	SMD_2393 -	3,82	2,86	0,75
SMD_3960 -	4,25	6,68	1,57	SMD_3959 -	4,73	5,44	1,15	SMD_3077 -	6,16	4,61	0,75
SMD_1691 -	2,84	4,47	1,57	SMD_3597 -	4,69	5,39	1,15	SMD_2381 -	8,37	6,25	0,75
SMD_3334 -	3,12	4,90	1,57	SMD_2141 smmJ2	2,77	3,19	1,15	SMD_2042 motA2	2,87	2,14	0,74
SMD_3379 trmB	3,57	5,61	1,57	SMD_0490 rsuA	4,23	4,87	1,15	SMD_0652 mutT	7,01	5,21	0,74
SMD_4128 -	5,31	8,32	1,57	SMD_1740 -	4,10	4,71	1,15	SMD_0428 -	5,96	4,43	0,74
SMD_1439 purE	4,18	6,55	1,57	SMD_1256 -	4,36	5,01	1,15	SMD_1250 -	10,75	7,98	0,74
SMD_1031 -	3,92	6,15	1,57	SMD_3101 rluF2	5,30	6,09	1,15	SMD_1315 -	6,70	4,97	0,74
SMD_1092 -	3,53	5,53	1,57	SMD_2722 ligA	4,62	5,30	1,15	SMD_4126 -	8,45	6,25	0,74
SMD_3178 -	2,45	3,84	1,57	SMD_2909 -	4,31	4,95	1,15	SMD_1676 -	6,66	4,92	0,74
SMD_3255 recQ	5,12	8,02	1,57	SMD_0413 -	2,58	2,96	1,15	SMD_2250 -	4,81	3,56	0,74
SMD_1675 -	3,93	6,16	1,57	SMD_2077 fliC3	5,39	6,19	1,15	SMD_0040 -	7,12	5,26	0,74
SMD_0386 -	3,66	5,74	1,57	SMD_1268 gpmA	4,71	5,41	1,15	SMD_1894 -	4,27	3,15	0,74
SMD_1185 tesB	4,10	6,43	1,57	SMD_2736 nbaC	3,09	3,54	1,15	SMD_2134 -	4,21	3,10	0,74
SMD_1521 -	4,67	7,32	1,57	SMD_1500 chrA	5,35	6,14	1,15	SMD_1249 -	8,83	6,50	0,74
SMD_1766 smeU2	3,54	5,55	1,57	SMD_1346 glnD	3,68	4,22	1,15	SMD_2474 sodA2	6,02	4,42	0,73
SMD_3672 -	4,25	6,66	1,57	SMD_1793 grpE	3,30	3,79	1,15	SMD_2104 clpS	9,74	7,15	0,73
SMD_1960 actP	2,98	4,67	1,56	SMD_3337 -	10,03	11,50	1,15	SMD_2301 -	4,63	3,40	0,73
SMD_0670 -	6,38	9,97	1,56	SMD_4013 bioF	4,68	5,36	1,15	SMD_2154 -	4,54	3,33	0,73
SMD_0170 GCDH	4,54	7,10	1,56	SMD_3319 -	3,79	4,35	1,15	SMD_2174 -	7,32	5,37	0,73
SMD_2352 -	3,73	5,84	1,56	SMD_2947 pheT	3,79	4,34	1,15	SMD_1595 -	6,15	4,51	0,73
SMD_0267 -	5,36	8,38	1,56	SMD_0208 -	3,63	4,16	1,15	SMD_2618 -	6,09	4,46	0,73
SMD_1340 -	5,54	8,65	1,56	SMD_3232 rsmE	3,89	4,46	1,15	SMD_1848 -	8,21	6,01	0,73
SMD_0577 -	3,51	5,47	1,56	SMD_1361 emrB	3,76	4,31	1,15	SMD_3733 -	6,12	4,48	0,73
SMD_2377 -	11,01	17,17	1,56	SMD_2829 -	3,81	4,37	1,15	SMD_2906 -	9,08	6,64	0,73
SMD_3322 -	2,95	4,60	1,56	SMD_3168 hflK	4,68	5,36	1,15	SMD_3520 leuA	5,38	3,93	0,73
SMD_1683 -	2,97	4,64	1,56	SMD_1646 -	4,06	4,65	1,15	SMD_0926 trbJ	10,81	7,90	0,73
SMD_2478 -	4,94	7,70	1,56	SMD_0651 secA	3,93	4,50	1,14	SMD_0465 -	5,32	3,88	0,73
SMD_4170 -	4,02	6,27	1,56	SMD_0205 -	3,25	3,72	1,14	SMD_2192 -	6,75	4,90	0,73
SMD_4196 -	5,14	8,01	1,56	SMD_0256 -	5,76	6,59	1,14	SMD_1410 -	3,74	2,71	0,72
SMD_2839 -	4,35	6,78	1,56	SMD_1914 murB	2,90	3,32	1,14	SMD_1149 -	4,86	3,52	0,72
SMD_3057 -	4,56	7,11	1,56	SMD_2970 nuoK	2,87	3,29	1,14	SMD_0464 -	4,57	3,31	0,72
SMD_3925 -	4,70	7,31	1,56	SMD_0503 -	6,29	7,20	1,14	SMD_4194 -	12,11	8,75	0,72
SMD_3729 -	6,33	9,84	1,55	SMD_3353 nadE	4,33	4,95	1,14	SMD_2689 -	16,94	12,24	0,72
SMD_1470 -	2,84	4,41	1,55	SMD_0838 folC	4,24	4,86	1,14	SMD_2422 glgX	5,16	3,73	0,72
SMD_0261 -	5,70	8,86	1,55	SMD_1049 purM	5,35	6,12	1,14	SMD_1662 pcm	4,74	3,42	0,72
SMD_4197 -	6,79	10,55	1,55	SMD_0836 -	3,39	3,88	1,14	SMD_2118 -	6,12	4,42	0,72
SMD_0113 glnG	4,53	7,03	1,55	SMD_1861 guaA	3,03	3,46	1,14	SMD_1836 -	4,68	3,37	0,72
SMD_3108 -	3,60	5,59	1,55	SMD_0583 xpsH	4,11	4,70	1,14	SMD_1225 -	5,04	3,63	0,72
SMD_0693 lgt	4,21	6,54	1,55	SMD_4030 -	3,92	4,48	1,14	SMD_0899 -	4,20	3,02	0,72
SMD_4161 -	3,47	5,39	1,55	SMD_0212 -	5,66	6,47	1,14	SMD_2607 pssA2	5,08	3,65	0,72
SMD_1465 -	3,35	5,19	1,55	SMD_2631 -	2,61	2,99	1,14	SMD_0877 tRNA-Asp	4,55	3,27	0,72
SMD_2356 -	3,82	5,91	1,55	SMD_2812 -	3,70	4,22	1,14	SMD_2561 -	10,73	7,72	0,72
SMD_2096 -	6,11	9,46	1,55	SMD_3371 -	6,41	7,32	1,14	SMD_2521 -	8,60	6,17	0,72
SMD_2758 -	2,88	4,45	1,55	SMD_3316 kup	3,73	4,26	1,14	SMD_0344 tRNA-ile	7,98	5,72	0,72
SMD_2433 modA	3,40	5,25	1,55	SMD_4155 acsA	5,35	6,11	1,14	SMD_1043 -	4,40	3,16	0,72
SMD_3934 ehpR	2,16	3,34	1,55	SMD_2851 metX	5,01	5,72	1,14	SMD_3827 -	8,13	5,83	0,72
SMD_2320 -	7,72	11,93	1,55	SMD_1671 folP	3,77	4,30	1,14	SMD_2233 xynB	4,19	2,98	0,71
SMD_0602 -	6,31	9,75	1,54	SMD_1925 -	6,37	7,27	1,14	SMD_2465 -	3,16	2,25	0,71
SMD_3546 -	7,73	11,94	1,54	SMD_3208 -	4,04	4,61	1,14	SMD_3822 -	10,33	7,35	0,71
SMD_0739 -	5,53	8,54	1,54	SMD_1204 -	4,46	5,08	1,14	SMD_2918 blc	9,45	6,71	0,71
SMD_2176 -	5,75	8,87	1,54	SMD_1858 folD	4,19	4,78	1,14	SMD_2553 -	6,40	4,54	0,71

SMD_0730 -	5,39	8,32	1,54	SMD_3343 -	5,00	5,70	1,14	SMD_0138 -	9,82	6,92	0,70
SMD_4100 -	3,93	6,05	1,54	SMD_3310 tolB	3,55	4,05	1,14	SMD_0241 -	8,32	5,86	0,70
SMD_0030 -	5,92	9,13	1,54	SMD_1423 -	4,87	5,55	1,14	SMD_0555 -	8,31	5,85	0,70
SMD_4238 rnpA	4,99	7,68	1,54	SMD_3626 -	4,36	4,97	1,14	SMD_1385 phoX	6,95	4,89	0,70
SMD_0347 5SrRNA	3,48	5,37	1,54	SMD_0019 -	7,36	8,38	1,14	SMD_2488 -	5,10	3,59	0,70
SMD_3063 nadD	2,68	4,13	1,54	SMD_1414 potI	3,68	4,19	1,14	SMD_0158 pneC	9,47	6,66	0,70
SMD_1222 -	4,02	6,19	1,54	SMD_2821 zupT	4,01	4,57	1,14	SMD_2760 -	4,45	3,12	0,70
SMD_2703 -	4,52	6,96	1,54	SMD_1040 -	3,87	4,41	1,14	SMD_1782 tmRNA	73,99	51,86	0,70
SMD_3914 phaAB	4,19	6,45	1,54	SMD_0051 -	5,87	6,69	1,14	SMD_2578 -	5,67	3,97	0,70
SMD_2232 -	2,66	4,09	1,54	SMD_0979 fabG	4,12	4,70	1,14	SMD_3712 glpD	8,62	6,04	0,70
SMD_1643 -	4,68	7,19	1,54	SMD_4009 -	16,18	18,42	1,14	SMD_0918 -	4,98	3,49	0,70
SMD_1746 -	3,78	5,80	1,54	SMD_0694 thyA	4,13	4,69	1,14	SMD_1763 smeU1	3,97	2,78	0,70
SMD_1243 -	3,71	5,70	1,54	SMD_1733 sdhD	4,15	4,71	1,14	SMD_3050 -	3,46	2,42	0,70
SMD_3381 -	7,02	10,78	1,54	SMD_3896 rplM	3,50	3,98	1,14	SMD_2454 -	5,61	3,92	0,70
SMD_3262 -	5,83	8,94	1,53	SMD_3789 sppA	4,71	5,36	1,14	SMD_0908 -	5,93	4,14	0,70
SMD_0689 -	7,64	11,73	1,53	SMD_2961 rbfA	3,35	3,81	1,14	SMD_1379 -	16,55	11,49	0,69
SMD_3336 clpB	3,35	5,15	1,53	SMD_1150 -	4,69	5,33	1,14	SMD_0562 pssA	7,16	4,97	0,69
SMD_0892 -	3,92	6,02	1,53	SMD_2036 cheA	3,47	3,94	1,14	SMD_0065 -	4,36	3,02	0,69
SMD_0712 -	2,94	4,50	1,53	SMD_3213 -	6,28	7,14	1,14	SMD_0691 -	7,80	5,40	0,69
SMD_2408 gspE	3,18	4,88	1,53	SMD_2367 -	5,66	6,44	1,14	SMD_2857 -	4,72	3,27	0,69
SMD_0351 ctpA	5,10	7,81	1,53	SMD_3440 iunH	4,15	4,72	1,14	SMD_1480 -	6,13	4,23	0,69
SMD_0112 glnL	3,96	6,07	1,53	SMD_1709 dapA	5,08	5,77	1,14	SMD_3596 -	8,26	5,66	0,69
SMD_3986 -	6,30	9,64	1,53	SMD_3953 lpxO	5,11	5,81	1,14	SMD_2256 -	4,47	3,06	0,69
SMD_0127 smrA	11,99	18,35	1,53	SMD_2882 pyrC	3,95	4,48	1,14	SMD_0909 smeX2	8,97	6,15	0,68
SMD_1867 C4.8	2,76	4,22	1,53	SMD_2949 rplT	3,44	3,91	1,14	SMD_1351 -	3,53	2,41	0,68
SMD_2530 -	3,54	5,41	1,53	SMD_3244 -	4,86	5,52	1,14	SMD_2171 -	4,98	3,40	0,68
SMD_0057 plsB	4,66	7,13	1,53	SMD_2021 -	3,10	3,52	1,14	SMD_1044 -	6,10	4,16	0,68
SMD_1475 -	5,65	8,63	1,53	SMD_0251 -	3,95	4,48	1,13	SMD_3145 -	4,85	3,31	0,68
SMD_3291 GpE	3,20	4,89	1,53	SMD_2346 -	4,14	4,70	1,13	SMD_1506 -	6,23	4,24	0,68
SMD_2451 -	4,73	7,22	1,53	SMD_0078 -	4,57	5,19	1,13	SMD_3780 smg	7,64	5,20	0,68
SMD_0368 -	3,66	5,60	1,53	SMD_0566 valS	3,50	3,98	1,13	SMD_1102 amyM	4,79	3,26	0,68
SMD_2563 dnaE2	4,62	7,06	1,53	SMD_0703 -	5,03	5,70	1,13	SMD_2878 sufE	8,51	5,78	0,68
SMD_1634 -	3,52	5,37	1,52	SMD_3289 Fl	5,97	6,77	1,13	SMD_2684 -	5,20	3,52	0,68
SMD_2582 -	3,90	5,95	1,52	SMD_1559 -	4,71	5,34	1,13	SMD_4094 -	4,98	3,37	0,68
SMD_3150 bcr	7,82	11,92	1,52	SMD_3600 -	3,66	4,15	1,13	SMD_3519 tdcB	4,16	2,79	0,67
SMD_3380 -	4,39	6,69	1,52	SMD_3541 maeB	3,85	4,36	1,13	SMD_0416 -	9,63	6,44	0,67
SMD_1012 -	5,29	8,07	1,52	SMD_0983 yceG	4,47	5,07	1,13	SMD_1601 -	6,19	4,14	0,67
SMD_1160 -	4,56	6,94	1,52	SMD_1397 -	4,77	5,41	1,13	SMD_0346 5SrRNA	4,54	3,03	0,67
SMD_3498 hemO	5,58	8,50	1,52	SMD_1108 ssb	3,72	4,22	1,13	SMD_2282 -	5,94	3,96	0,67
SMD_0875 tRNA-Asp	3,67	5,59	1,52	SMD_1751 -	3,93	4,45	1,13	SMD_0680 -	4,51	3,00	0,67
SMD_2399 -	4,54	6,91	1,52	SMD_0066 -	4,71	5,34	1,13	SMD_2431 -	4,49	2,99	0,66
SMD_2270 -	3,16	4,80	1,52	SMD_0728 nudF	4,10	4,65	1,13	SMD_2734 paiZ	5,17	3,43	0,66
SMD_0751 -	3,99	6,07	1,52	SMD_4220 rmuC	4,11	4,66	1,13	SMD_2056 flilN	4,25	2,82	0,66
SMD_0682 -	3,68	5,60	1,52	SMD_1221 -	3,29	3,72	1,13	SMD_3185 pdxH	8,33	5,52	0,66
SMD_3212 -	6,57	9,98	1,52	SMD_3416 tktA	3,56	4,03	1,13	SMD_2274 -	4,64	3,06	0,66
SMD_4067 apbA	7,84	11,91	1,52	SMD_3903 trpC	4,98	5,64	1,13	SMD_2415 -	4,42	2,89	0,65
SMD_1996 -	3,01	4,58	1,52	SMD_0559 proS	4,58	5,18	1,13	SMD_2323 trbP	4,07	2,65	0,65
SMD_0311 -	7,51	11,41	1,52	SMD_0535 -	2,61	2,95	1,13	SMD_0967 -	5,81	3,77	0,65
SMD_1622 -	5,49	8,33	1,52	SMD_2543 dld	2,89	3,27	1,13	SMD_1208 ldhA	8,83	5,71	0,65
SMD_4228 -	3,89	5,91	1,52	SMD_0829 -	4,96	5,61	1,13	SMD_2575 -	5,95	3,83	0,64
SMD_1014 pilU	5,74	8,71	1,52	SMD_1656 ftsB	3,72	4,20	1,13	SMD_3388 yfiF	4,44	2,86	0,64
SMD_3525 -	4,00	6,07	1,52	SMD_3856 -	6,14	6,94	1,13	SMD_0450 phnB	7,71	4,97	0,64
SMD_1186 -	3,02	4,58	1,52	SMD_0262 phoQ	5,56	6,28	1,13	SMD_2337 -	4,50	2,90	0,64
SMD_3881 -	3,91	5,93	1,52	SMD_3938 -	4,66	5,26	1,13	SMD_3407 -	5,80	3,73	0,64
SMD_3054 rnfG	4,03	6,11	1,52	SMD_0477 motB	4,95	5,59	1,13	SMD_1698 -	7,80	4,97	0,64
SMD_2712 -	5,46	8,28	1,52	SMD_3708 lpdA	3,61	4,08	1,13	SMD_3565 -	4,95	3,15	0,64
SMD_1079 -	5,21	7,89	1,51	SMD_0713 glnS	4,64	5,23	1,13	SMD_3017 -	13,97	8,87	0,64
SMD_0213 -	3,91	5,92	1,51	SMD_1528 -	4,80	5,41	1,13	SMD_0471 -	5,84	3,70	0,63
SMD_0516 -	7,33	11,09	1,51	SMD_1980 -	3,68	4,15	1,13	SMD_1899 -	6,68	4,24	0,63
SMD_4108 cioB	4,87	7,38	1,51	SMD_3917 phaE	3,78	4,26	1,13	SMD_3173 bfr	4,52	2,87	0,63
SMD_1142 -	4,28	6,48	1,51	SMD_3330 -	6,26	7,06	1,13	SMD_1696 -	7,16	4,52	0,63
SMD_2459 -	3,17	4,80	1,51	SMD_3584 -	5,74	6,47	1,13	SMD_3495 -	5,32	3,34	0,63
SMD_2099 -	3,05	4,61	1,51	SMD_3732 -	7,82	8,82	1,13	SMD_2832 -	3,39	2,13	0,63
SMD_3028 -	3,57	5,40	1,51	SMD_2847 ccmF	3,76	4,23	1,13	SMD_2524 -	4,83	3,03	0,63
SMD_3424 pilQ	4,29	6,49	1,51	SMD_2825 -	4,01	4,52	1,13	SMD_2432 modB	5,87	3,67	0,63
SMD_3946 -	9,02	13,64	1,51	SMD_4151 xthA3	4,99	5,62	1,13	SMD_2699 -	10,36	6,46	0,62
SMD_2300 -	6,79	10,25	1,51	SMD_4051 gnt6	6,16	6,93	1,13	SMD_0032 -	7,92	4,94	0,62
SMD_3568 -	4,77	7,20	1,51	SMD_3193 -	4,24	4,77	1,13	SMD_0161 -	13,71	8,52	0,62
SMD_0764 -	5,17	7,80	1,51	SMD_1831 smml	3,92	4,42	1,13	SMD_1177 -	9,67	5,99	0,62
SMD_3369 -	4,12	6,22	1,51	SMD_2759 -	3,39	3,82	1,13	SMD_1952 hisF	3,78	2,33	0,62
SMD_3551 fabG3	2,43	3,67	1,51	SMD_2046 flilA	3,35	3,77	1,12	SMD_0236 -	11,76	7,26	0,62
SMD_3887 -	6,69	10,11	1,51	SMD_0056 -	8,27	9,30	1,12	SMD_2912 -	5,02	3,09	0,62
SMD_0201 -	5,73	8,65	1,51	SMD_1987 -	4,49	5,05	1,12	SMD_0619 thiL	5,35	3,29	0,62
SMD_1152 -	2,01	3,03	1,51	SMD_1826 uup	4,01	4,51	1,12	SMD_3297 -	6,36	3,91	0,61
SMD_1498 arsC4	6,33	9,54	1,51	SMD_2142 -	3,25	3,65	1,12	SMD_0254 -	6,10	3,74	0,61
SMD_1617 -	3,98	6,00	1,51	SMD_3492 -	5,74	6,45	1,12	SMD_1991 feoA	4,37	2,67	0,61
SMD_3166 -	3,77	5,68	1,51	SMD_0841 purF	4,20	4,72	1,12	SMD_1402 aldH	5,24	3,20	0,61
SMD_3915 phaC	3,02	4,55	1,51	SMD_1195 murJ	4,00	4,49	1,12	SMD_3110 -	17,43	10,60	0,61
SMD_0156 -	4,72	7,11	1,51	SMD_0330 pyrE	3,54	3,98	1,12	SMD_1383 pstC	17,53	10,66	0,61
SMD_3238 pilJ	4,19	6,30	1,50	SMD_2952 thrS	4,03	4,52	1,12	SMD_2592 -	3,89	2,36	0,61
SMD_1834 -	3,61	5,43	1,50	SMD_2969 nuoL	2,68	3,00	1,12	SMD_1600 -	6,48	3,93	0,61
SMD_0497 -	6,03	9,07	1,50	SMD_3511 -	5,30	5,94	1,12	SMD_1752 psiF	4,15	2,52	0,61
SMD_4086 kefB	4,27	6,41	1,50	SMD_0532 wxoCA	3,14	3,52	1,12	SMD_2180 -	5,42	3,27	0,60
SMD_0226 -	7,36	11,06	1,50	SMD_1349 -	4,09	4,59	1,12	SMD_1597 -	7,29	4,39	0,60
SMD_0310 -	5,44	8,17	1,50	SMD_1450 pilX	3,51	3,93	1,12	SMD_2462 -	4,40	2,62	0,59
SMD_2205 -	3,23	4,85	1,50	SMD_3051 -	3,45	3,87	1,12	SMD_2162 -	3,71	2,20	0,59
SMD_3694 glmU	3,57	5,36	1,50	SMD_0545 rmlA	3,28	3,68	1,12	SMD_0906 -	8,90	5,26	0,59
SMD_1283 -	4,56	6,85	1,50	SMD_3859 rho	3,79	4,25	1,12	SMD_2931 -	9,07	5,35	0,59
SMD_3506 -	3,78	5,67	1,50	SMD_1794 dnaK	3,57	4,00	1,12	SMD_3363 -	5,49	3,23	0,59
SMD_2889 -	4,74	7,11	1,50	SMD_2264 -	3,92	4,39	1,12	SMD_2265 -	13,25	7,78	0,59
SMD_1539 -	3,58	5,37	1,50	SMD_2187 -	4,37	4,90	1,12	SMD_0927 -	6,11	3,59	0,59
SMD_2871 -	3,08	4,62	1,50	SMD_0081 -	3,17	3,56	1,12	SMD_3710 -	5,09	2,99	0,59
SMD_0237 -	4,47	6,70	1,50	SMD_1172 -	3,73	4,18	1,12	SMD_3390 -	4,33	2,54	0,59
SMD_1112 -	2,23	3,33	1,50	SMD_0701 surA	3,93	4,39	1,12	SMD_2053 flilQ	3,74	2,19	0,58
SMD_3990 -	5,37	8,04	1,50	SMD_0634 -	10,26	11,48	1,12	SMD_2512 -	8,03	4,69	0,58

SMD_2410	gspM	3,58	5,37	1,50	SMD_1796	-	1,94	2,16	1,12	SMD_1084	-	16,68	9,73	0,58
SMD_1743	ftsY	3,37	5,04	1,50	SMD_2754	metH	3,65	4,08	1,12	SMD_2371	smmB	9,25	5,37	0,58
SMD_3956	-	5,25	7,86	1,50	SMD_0220	-	5,39	6,03	1,12	SMD_3963	-	15,30	8,87	0,58
SMD_3295	D	3,63	5,42	1,50	SMD_3180	acnA	3,19	3,57	1,12	SMD_3032	-	4,30	2,49	0,58
SMD_3945	-	9,19	13,74	1,49	SMD_0489	rsmC	5,98	6,69	1,12	SMD_3370	-	8,49	4,93	0,58
SMD_0150	-	4,69	7,02	1,49	SMD_2713	-	3,87	4,33	1,12	SMD_2504	-	5,59	3,24	0,58
SMD_1694	-	2,74	4,10	1,49	SMD_1167	minD	3,54	3,96	1,12	SMD_3276	X	4,75	2,75	0,58
SMD_1155	mgo	5,06	7,56	1,49	SMD_3025	dcd	4,65	5,20	1,12	SMD_2692	-	8,34	4,82	0,58
SMD_0203	-	3,29	4,92	1,49	SMD_1258	-	3,73	4,17	1,12	SMD_3464	-	7,24	4,19	0,58
SMD_1038	kdsC	3,93	5,87	1,49	SMD_3630	-	3,96	4,43	1,12	SMD_2403	gspl	6,48	3,73	0,58
SMD_3435	chlC	7,83	11,68	1,49	SMD_0741	StmPr1	4,87	5,44	1,12	SMD_1008	soxR	4,75	2,73	0,58
SMD_1218	radA	5,39	8,04	1,49	SMD_0638	ftsI	4,28	4,78	1,12	SMD_3736	-	4,84	2,78	0,57
SMD_0540	-	3,88	5,79	1,49	SMD_0558	hns	4,29	4,78	1,12	SMD_2862	hmsF	10,76	6,16	0,57
SMD_3247	-	3,56	5,32	1,49	SMD_0599	wecB	4,59	5,13	1,12	SMD_2447	-	8,86	5,06	0,57
SMD_0210	-	3,82	5,69	1,49	SMD_2579	-	5,38	6,01	1,12	SMD_1206	-	13,01	7,43	0,57
SMD_3396	cysB	5,90	8,80	1,49	SMD_0397	-	4,42	4,93	1,12	SMD_1621	-	5,38	3,06	0,57
SMD_1815	-	3,76	5,61	1,49	SMD_0530	wzt	3,31	3,69	1,12	SMD_0692	-	5,03	2,86	0,57
SMD_4088	ycgL	7,23	10,79	1,49	SMD_2963	nusA	4,26	4,75	1,12	SMD_3549	-	4,97	2,82	0,57
SMD_2357	-	11,63	17,33	1,49	SMD_1577	-	3,13	3,50	1,12	SMD_4003	agaZ	9,96	5,64	0,57
SMD_1483	-	5,41	8,07	1,49	SMD_0407	-	4,16	4,64	1,12	SMD_3059	arcD	15,09	8,50	0,56
SMD_1582	-	3,39	5,05	1,49	SMD_0499	gph	5,61	6,26	1,11	SMD_1897	-	6,00	3,38	0,56
SMD_3012	greB	3,66	5,45	1,49	SMD_1647	-	4,14	4,61	1,11	SMD_3943	blc2	5,94	3,33	0,56
SMD_2698	-	3,43	5,10	1,49	SMD_0391	-	4,90	5,46	1,11	SMD_4025	smeR	13,14	7,36	0,56
SMD_4059	-	6,50	9,67	1,49	SMD_1028	ptsH	3,43	3,82	1,11	SMD_3973	-	10,53	5,87	0,56
SMD_0554	-	4,02	5,97	1,49	SMD_3932	-	3,09	3,45	1,11	SMD_4136	-	10,28	5,72	0,56
SMD_1566	czcD	5,03	7,47	1,49	SMD_2224	-	4,14	4,61	1,11	SMD_1887	-	4,77	2,64	0,55
SMD_2526	-	3,61	5,37	1,49	SMD_0646	ftsQ	2,82	3,14	1,11	SMD_2646	-	13,97	7,71	0,55
SMD_1544	-	8,80	13,07	1,49	SMD_0231	-	3,28	3,65	1,11	SMD_2441	moaA	4,70	2,58	0,55
SMD_0132	arsC	6,42	9,54	1,49	SMD_0781	rpsG	3,06	3,40	1,11	SMD_2370	smmA	9,91	5,44	0,55
SMD_1725	kgdA	2,53	3,76	1,49	SMD_0855	-	5,61	6,24	1,11	SMD_1906	-	6,54	3,59	0,55
SMD_3163	-	4,69	6,97	1,49	SMD_1356	parC	3,67	4,08	1,11	SMD_3256	copL2	11,95	6,53	0,55
SMD_1744	-	3,38	5,02	1,48	SMD_1337	tsf	3,81	4,23	1,11	SMD_1435	-	5,51	3,00	0,54
SMD_0734	-	5,46	8,10	1,48	SMD_3118	hpt	3,62	4,02	1,11	SMD_0624	-	7,13	3,88	0,54
SMD_1543	-	3,16	4,68	1,48	SMD_1400	-	4,40	4,89	1,11	SMD_0987	tRNA-Val	5,23	2,84	0,54
SMD_3560	-	4,18	6,20	1,48	SMD_1958	cutC	3,11	3,45	1,11	SMD_2440	moaBC	4,25	2,30	0,54
SMD_2103	-	3,47	5,15	1,48	SMD_3000	truA	3,44	3,82	1,11	SMD_2539	cdh	5,53	3,00	0,54
SMD_4047	-	4,88	7,23	1,48	SMD_4057	-	4,02	4,47	1,11	SMD_2529	-	7,22	3,89	0,54
SMD_1399	-	4,39	6,50	1,48	SMD_0587	pefL	3,79	4,21	1,11	SMD_1409	-	6,88	3,67	0,53
SMD_0431	-	5,57	8,24	1,48	SMD_1118	cytR	4,64	5,15	1,11	SMD_1881	-	22,14	11,76	0,53
SMD_4106	-	4,63	6,85	1,48	SMD_0756	rplY	4,13	4,58	1,11	SMD_1504	smeV2	8,88	4,71	0,53
SMD_2347	fdxC	4,07	6,02	1,48	SMD_1200	-	3,51	3,89	1,11	SMD_1004	-	20,52	10,71	0,52
SMD_3085	acvB	5,60	8,27	1,48	SMD_4119	hemF	5,38	5,97	1,11	SMD_2107	-	5,03	2,62	0,52
SMD_0526	-	21,27	31,42	1,48	SMD_1638	-	5,18	5,75	1,11	SMD_1759	-	6,44	3,35	0,52
SMD_1660	-	2,67	3,94	1,48	SMD_4207	-	5,46	6,06	1,11	SMD_1114	-	6,62	3,41	0,52
SMD_2124	-	2,39	3,53	1,48	SMD_1105	-	4,36	4,84	1,11	SMD_1519	-	10,46	5,37	0,51
SMD_0371	dnaG	4,19	6,18	1,48	SMD_3531	tolC	3,98	4,41	1,11	SMD_2240	-	6,28	3,21	0,51
SMD_0303	-	4,79	7,07	1,48	SMD_1943	hisS	3,98	4,41	1,11	SMD_0888	-	7,58	3,88	0,51
SMD_0519	-	3,44	5,07	1,48	SMD_3711	-	5,79	6,42	1,11	SMD_4135	-	13,80	7,05	0,51
SMD_1527	-	3,77	5,56	1,47	SMD_0869	tig	4,33	4,80	1,11	SMD_3325	-	4,84	2,46	0,51
SMD_0747	-	4,46	6,57	1,47	SMD_3912	purC	7,26	8,05	1,11	SMD_2590	-	7,12	3,62	0,51
SMD_0370	-	4,33	6,38	1,47	SMD_0975	rpmF	3,83	4,24	1,11	SMD_0375	gcp	8,46	4,29	0,51
SMD_2383	-	2,89	4,26	1,47	SMD_2814	sodA	4,54	5,02	1,11	SMD_3494	-	5,93	2,99	0,50
SMD_1265	-	5,17	7,62	1,47	SMD_0923	trbC	3,07	3,40	1,11	SMD_3756	-	18,01	9,08	0,50
SMD_0849	ppx	6,46	9,52	1,47	SMD_3045	-	2,38	2,64	1,11	SMD_0441	-	12,99	6,49	0,50
SMD_2342	-	7,20	10,61	1,47	SMD_2784	asnB2	4,67	5,17	1,11	SMD_3078	-	7,61	3,78	0,50
SMD_1618	-	3,54	5,22	1,47	SMD_2764	-	5,51	6,10	1,11	SMD_4001	agaS	5,47	2,72	0,50
SMD_0159	-	9,01	13,27	1,47	SMD_3105	sphB	4,21	4,66	1,11	SMD_3300	-	11,93	5,91	0,50
SMD_0854	grxC	3,41	5,02	1,47	SMD_3719	-	4,22	4,67	1,11	SMD_0326	kdpC	5,63	2,79	0,50
SMD_3579	-	4,91	7,23	1,47	SMD_4216	-	3,92	4,34	1,11	SMD_1116	-	6,58	3,24	0,49
SMD_3725	-	7,12	10,47	1,47	SMD_3404	-	3,95	4,37	1,11	SMD_0891	-	12,04	5,90	0,49
SMD_2779	phoD	4,59	6,76	1,47	SMD_1718	panD	3,97	4,40	1,11	SMD_2943	-	20,49	10,00	0,49
SMD_1245	-	4,78	7,02	1,47	SMD_1810	yajC	3,36	3,72	1,11	SMD_2334	-	5,73	2,75	0,48
SMD_3644	mreD	3,85	5,65	1,47	SMD_0202	-	4,70	5,20	1,11	SMD_2257	-	5,85	2,78	0,47
SMD_0653	-	4,36	6,41	1,47	SMD_3486	-	5,61	6,21	1,11	SMD_2199	-	13,49	6,40	0,47
SMD_2922	dxs	4,18	6,14	1,47	SMD_3766	dtlD	5,15	5,70	1,11	SMD_0949	-	6,61	3,12	0,47
SMD_0572	-	4,13	6,07	1,47	SMD_0435	-	8,12	8,99	1,11	SMD_2429	-	9,65	4,53	0,47
SMD_1081	-	6,20	9,10	1,47	SMD_1455	uvrB	4,11	4,54	1,11	SMD_2602	-	15,36	7,14	0,46
SMD_0182	ubiB	4,09	6,00	1,47	SMD_1035	lptB	3,78	4,18	1,11	SMD_2071	-	4,61	2,14	0,46
SMD_3348	-	4,39	6,43	1,47	SMD_1764	smeV	4,32	4,77	1,11	SMD_1910	-	12,94	5,95	0,46
SMD_3391	smeN	3,51	5,15	1,47	SMD_0805	secY	3,40	3,76	1,11	SMD_0661	-	7,72	3,49	0,45
SMD_0934	gloB	8,00	11,72	1,47	SMD_4138	smmO	5,98	6,61	1,11	SMD_2648	-	7,31	3,30	0,45
SMD_0048	C4.3	5,77	8,46	1,47	SMD_1508	-	4,43	4,90	1,11	SMD_0185	-	10,86	4,89	0,45
SMD_2574	-	13,38	19,60	1,47	SMD_0685	-	5,43	6,00	1,11	SMD_3947	-	11,76	5,25	0,45
SMD_0509	-	3,97	5,82	1,47	SMD_0412	aceE2	3,45	3,82	1,10	SMD_2412	gspK	12,17	5,37	0,44
SMD_3458	-	3,91	5,73	1,46	SMD_4091	fabG5	3,23	3,56	1,10	SMD_2203	-	16,13	7,11	0,44
SMD_1088	phzF2	6,42	9,40	1,46	SMD_0588	xpsM	4,17	4,60	1,10	SMD_1461	-	12,24	5,37	0,44
SMD_4082	-	4,30	6,29	1,46	SMD_1805	-	3,45	3,81	1,10	SMD_2548	-	7,76	3,22	0,42
SMD_0181	-	3,36	4,91	1,46	SMD_1755	upp	4,37	4,82	1,10	SMD_0951	-	24,85	10,32	0,42
SMD_2826	-	3,16	4,62	1,46	SMD_3534	htrB	5,69	6,28	1,10	SMD_1589	tRNA-Gly	4,89	2,01	0,41
SMD_2687	-	5,41	7,91	1,46	SMD_3099	-	5,22	5,76	1,10	SMD_3743	-	167,22	67,84	0,41
SMD_1878	-	5,85	8,56	1,46	SMD_1153	-	5,55	6,12	1,10	SMD_0453	-	8,24	3,30	0,40
SMD_1821	-	3,27	4,79	1,46	SMD_2977	nuoD	3,30	3,63	1,10	SMD_2672	tRNA-Ser	6,27	2,48	0,40
SMD_4021	smeC	6,21	9,08	1,46	SMD_2439	moeA	3,80	4,19	1,10	SMD_3111	ligC	20,20	7,97	0,39
SMD_1920	tRNA-Arg	3,86	5,65	1,46	SMD_0174	-	7,34	8,10	1,10	SMD_2619	-	6,08	2,40	0,39
SMD_1086	osmC	4,15	6,07	1,46	SMD_3902	-	5,19	5,73	1,10	SMD_0253	-	9,38	3,59	0,38
SMD_1442	sodB	4,08	5,96	1,46	SMD_1230	-	4,52	4,98	1,10	SMD_1481	-	8,99	3,43	0,38
SMD_3183	prpR	5,59	8,18	1,46	SMD_1089	lysA	4,24	4,67	1,10	SMD_3608	C4.13	7,80	2,95	0,38
SMD_1672	miaA	3,31	4,84	1,46	SMD_4202	folE	4,48	4,94	1,10	SMD_3304	tRNA-Lys	5,68	2,13	0,38
SMD_2204	-	2,73	3,99	1,46	SMD_0605	-	4,56	5,03	1,10	SMD_2407	gspF	11,30	4,20	0,37
SMD_4149	hetI	4,80	7,01	1,46	SMD_3737	-	5,67	6,24	1,10					

SMD_0498 -	4,97	7,24	1,46	SMD_1226 rpsP	3,99	4,39	1,10	SMD_3740 -	11,66	3,95	0,34
SMD_1893 ssuE	3,68	5,37	1,46	SMD_1680 alaS	4,14	4,56	1,10	SMD_0071 -	7,34	2,49	0,34
SMD_0279 -	6,05	8,81	1,46	SMD_1964 -	3,49	3,85	1,10	SMD_0657 -	8,47	2,78	0,33
SMD_0045 -	6,89	10,05	1,46	SMD_0774 rplK	3,47	3,82	1,10	SMD_1538 -	13,59	4,44	0,33
SMD_0709 -	3,12	4,54	1,46	SMD_0192 dcp	4,66	5,13	1,10	SMD_1602 -	10,01	3,26	0,33
SMD_2742 -	3,56	5,19	1,46	SMD_3656 smeF	3,60	3,96	1,10	SMD_1376 -	17,92	5,81	0,32
SMD_3338 -	4,58	6,68	1,46	SMD_2143 -	3,98	4,38	1,10	SMD_0426 -	11,34	3,60	0,32
SMD_3857 trxA	2,89	4,21	1,46	SMD_1738 -	3,89	4,28	1,10	SMD_2152 -	43,32	13,05	0,30
SMD_3872 -	4,66	6,78	1,46	SMD_3308 -	4,61	5,07	1,10	SMD_1107 -	12,00	3,59	0,30
SMD_4204 -	13,71	19,96	1,46	SMD_0717 rnk	3,82	4,20	1,10	SMD_3570 -	12,37	3,67	0,30
SMD_1727 pgl	3,47	5,05	1,46	SMD_0677 -	4,43	4,87	1,10	SMD_1590 tRNA-Cys	12,17	3,60	0,30
SMD_3358 pilB	4,72	6,86	1,45	SMD_0219 -	6,90	7,59	1,10	SMD_2567 -	29,31	8,60	0,29
SMD_0091 -	5,50	7,99	1,45	SMD_1413 potH	3,59	3,95	1,10	SMD_2280 -	25,70	7,48	0,29
SMD_3141 -	3,66	5,31	1,45	SMD_2022 acn	3,76	4,13	1,10	SMD_2281 -	14,03	4,00	0,28
SMD_4134 dnaQ2	4,72	6,86	1,45	SMD_2005 -	4,45	4,89	1,10	SMD_0989 C4.10	10,10	2,86	0,28
SMD_2676 -	4,53	6,57	1,45	SMD_1386 -	4,76	5,22	1,10	SMD_2186 -	11,20	2,93	0,26
SMD_1705 -	2,72	3,95	1,45	SMD_0640 murF	3,28	3,60	1,10	SMD_1109 gip	19,57	4,99	0,25
SMD_3200 -	4,47	6,48	1,45	SMD_0321 dfp	5,18	5,69	1,10	SMD_0862 tRNA-Pro	8,91	2,22	0,25
SMD_3599 fhuE	4,33	6,28	1,45	SMD_2208 -	2,71	2,98	1,10	SMD_1624 -	12,17	3,02	0,25
SMD_1453 tRNA-Asn	2,73	3,96	1,45	SMD_4090 fabF2	3,16	3,47	1,10	SMD_1907 -	21,13	5,07	0,24
SMD_3580 -	4,74	6,87	1,45	SMD_0831 rluB2	4,45	4,89	1,10	SMD_4040 -	30,26	7,06	0,23
SMD_2817 -	5,04	7,30	1,45	SMD_2001 greA	3,31	3,63	1,10	SMD_4182 16SrRNA	53,69	12,05	0,22
SMD_3443 spoT	5,34	7,73	1,45	SMD_0879 ppiD	4,13	4,53	1,10	SMD_2449 -	36,32	7,77	0,21
SMD_3747 -	3,71	5,37	1,45	SMD_0009 exbB	3,15	3,46	1,10	SMD_2925 -	33,38	6,94	0,21
SMD_3142 -	4,56	6,59	1,45	SMD_4068 -	5,75	6,30	1,10	SMD_2446 -	18,14	3,71	0,20
SMD_3351 comL	7,93	11,47	1,45	SMD_1640 -	4,96	5,44	1,10	SMD_2400 -	31,27	5,37	0,17
SMD_3382 -	7,09	10,25	1,45	SMD_1473 tRNA-Gly	2,72	2,98	1,10	SMD_0669 -	45,87	7,72	0,17
SMD_1487 copF	4,16	6,01	1,45	SMD_1840 ihfB	3,63	3,98	1,10	SMD_0404 -	15,81	2,65	0,17
SMD_0938 -	3,51	5,08	1,45	SMD_1375 rnt	5,40	5,93	1,10	SMD_1758 -	26,57	4,39	0,17
SMD_3640 mltB	5,25	7,58	1,45	SMD_0825 -	6,65	7,29	1,10	SMD_4187 16SrRNA	63,52	10,40	0,16
SMD_0398 -	3,67	5,30	1,44	SMD_2158 -	4,15	4,55	1,10	SMD_4179 23SrRNA	160,72	20,42	0,13
SMD_1869 -	3,97	5,73	1,44	SMD_2168 -	8,11	8,88	1,10	SMD_0337 16SrRNA	95,67	11,83	0,12
SMD_1252 -	2,81	4,05	1,44	SMD_3926 -	6,89	7,56	1,10	SMD_0922 trbB	38,53	4,68	0,12
SMD_0162 tolA	10,15	14,64	1,44	SMD_1113 -	2,40	2,64	1,10	SMD_2285 -	44,26	4,98	0,11
SMD_3084 lpiA	5,62	8,10	1,44	SMD_3619 -	3,28	3,59	1,10	SMD_0342 16SrRNA	106,64	11,00	0,10
SMD_1668 ftsJ	4,75	6,85	1,44	SMD_0088 -	4,29	4,70	1,10	SMD_0340 23SrRNA	320,15	21,22	0,07
SMD_0109 -	5,06	7,29	1,44	SMD_1164 -	3,78	4,14	1,10	SMD_1552 -	114,12	6,08	0,05
SMD_3554 engC	5,46	7,87	1,44	SMD_0612 -	4,65	5,10	1,10	SMD_2500 -	94,75	4,50	0,05
								SMD_3972 -	613,74	8,16	0,01

^aLos tiempos de vida media se indican en min.

Los genes se ordenan en forma decreciente de la relación del tiempo de vida media entre la cepa mutante FSV46 y la cepa silvestre D457.